



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA  
Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

Otite esterna del cane: studio clinico-epidemiologico  
retrospettivo e prospettivo

Candidato: Jennifer Rabaglietti

Relatore: Prof. Michele Corazza

Correlatore: Prof.ssa Grazia Guidi

ANNO ACCADEMICO 2013-2014

*To that little blonde girl  
who once dreamt of becoming a vet.....*



*May all of her dreams come true just like this day.*

Indice	pag.3
Riassunto - Abstract	pag.6
Capitolo 1	
<b>Otite esterna del cane generalità</b>	pag.7
Capitolo 2	
<b>Anatomia e fisiologia dell'orecchio</b>	pag.9
2.1- Anatomia	pag.9
2.2- Anatomia Topografica	pag.10
2.3- Microclima del canale auricolare	pag.13
2.4- Composizione del cerume	pag.14
2.5- Normale flora del canale uditivo esterno	pag.15
Capitolo 3	
<b>Principali cause di otite</b>	pag.16
3.1- Fattori predisponenti	pag.16
3.2- Fattori perpetuanti	pag.17
3.3- Cause primarie	pag.18
○ Ipersensibilità: derm. atopica e allergie alimentari	pag.19
○ Parassiti	pag.20
○ Corpi estranei	pag.23
○ Disordini della cheratinizzazione ed endocrinopatie	pag.23
○ Neoplasie e polipi	pag.24
3.4- Cause secondarie	pag.25
○ Batteri	pag.26
○ Lieviti	pag.26
Capitolo 4	
<b>Approccio diagnostico all'otite esterna</b>	
pag.27	
4.1- Anamnesi	pag.27

4.2- Esame generale e speciale	pag.28
4.3- Esame otoscopico	pag.28
4.4- Esame citologico	pag.32
○ Metodologie di prelievo di materiale	pag.33
○ Allestimento del preparato	pag.34
○ Esame microscopico	pag.35
Qualità del cerume	pag.36
I cheratinociti ed altri elementi cellulari	pag.36
Batteri	pag.40
Leucociti	pag.42
Malassezia	pag.43
Parassiti	pag.46
Cellule neoplastiche	pag.48
4.5- Diagnostica per immagini	pag.48

## Capitolo 5

<b>Modificazioni fisiopatologiche in corso di otite</b>	pag.51
---	--------

## Capitolo 6

<b>Malattie del padiglione auricolare</b>	pag.57
○ Rogna Notoedrica e Sarcoptica	pag.57
○ Trombiculosi	pag.58
○ Pemfigo fogliaceo, eritematoso e Lupus eritematoso	pag.58
○ Vasculiti	pag.60
○ Carcinoma squamocellulare	pag.61
○ Istiocitoma	pag.61

## Capitolo 7

<b>Trattamento delle otiti</b>	pag.64
7.1- Terapia medica	pag.64
7.2- Terapia chirurgica	pag.68

## Capitolo 8

**Materiali e metodi** pag.70

8.1 - Popolazione di studio e raccolta dati pag.70

8.2 - Procedure cliniche per la raccolta dati pag.70

## Capitolo 9

**Risultati** pag.76

9.1 - Prevalenza dei sessi pag.76

9.2 - Razze pag.76

9.3 - Età alla diagnosi pag.78

9.4 - Cause primarie e fattori predisponenti pag.80

9.5 - Esame citologico pag.81

9.6 - Esame colturale e antibiogramma pag.82

9.7 - Intervento chirurgico pag.84

## Capitolo 10

**Discussione e conclusioni** pag.85

**Bibliografia** pag.90

## **Riassunto**

**Parole chiave:** otite esterna, cane, indagine clinico-epidemiologica.

L'otite esterna è una comune malattia degli animali d'affezione, definita come l'infiammazione acuta o cronica del padiglione auricolare e del condotto uditivo esterno. Tutte le razze, di qualsiasi sesso e ad ogni età possono esserne soggette. Questa patologia spesso rappresenta un problema di difficile risoluzione per il veterinario ed un problema frustrante per il proprietario dell'animale. Il decorso della malattia spesso è lungo, le recidive sono frequenti e talvolta la terapia risulta inefficace, facendo progredire il caso verso un'otite esterna terminale. Ha un'etiologia multifattoriale; l'evento scatenante infatti può essere rappresentato da un singolo agente causale oppure può essere il risultato della somma di più fattori. Lo schema usato per la classificazione degli agenti scatenanti ha subito negli'anni diverse modificazioni, ma prende origine dallo schema proposto nel 1988 da JR August, che per primo riportò nella classificazione non solo le cause ma anche i fattori, distinti in predisponenti e perpetuanti. L'infiammazione del canale auricolare produce una cascata d'eventi che rendono l'orecchio un ambiente favorevole alla moltiplicazione dei micro-organismi patogeni. Lo stato infiammatorio cronico indotto da otiti ricorrenti può provocare gravi modificazioni del condotto uditivo e nei casi più gravi si può osservare l'ossificazione della porzione cartilaginea. Queste modificazioni sono frequenti cause d'interventi chirurgici della rimozione del condotto perché la terapia medica diviene inefficace. In questo studio sono stati valutati i casi clinici di cani affetti da patologie auricolari che si sono presentati all'ospedale "Mario Modenato" di S Piero a Grado dal 2010-2014. L'obiettivo della seguente tesi è stato quello di analizzare in via retrospettiva e prospettiva i casi di otite esterna nel cane al fine di ottenere dati clinico epidemiologici riguardanti il segnalamento, le cause, fattori predisponenti e perpetuanti. Nello studio sono stati considerati l'età, la razza e il sesso; la causa primaria, gli eventuali fattori predisponenti e l'associazione tra i patogeni, cocchi, bastoncellari e malseszie. Dalla valutazione dei casi è risultata una prevalenza delle femmine (52,74%) sui maschi (47,26%). Le razze maggiormente predisposte allo sviluppo di otite nella nostra popolazione sono il Labrador (12,39%), il pastore tedesco (8,72%), il Bulldog inglese (6,42%), e il cocker spaniel (4,59%). I 219 cani che presentavano otite esterna avevano quale malattia predisponente: dermatite atopica (74,43%), parassiti (6,85%), corpi estranei (6,39%), endocrinopatie (4,57%), patologie del padiglione (2,74%), otite media (2,28%), enteriti croniche (1,37%), allergia al morso da pulce 0,91%, leishmania (0,46%).

## **Abstract**

**Keywords:** otitis externa, dog, clinical-epidemiological investigation.

Otitis externa is a common diagnosed disorder in the dog, generally known as the acute and chronic inflammation of the ear canal end pinna. All breeds, of both genders and of any age can be affected by it. This disorder is often a challenge for the veterinary to resolve and a source of frustration for the client. Long recurrent disease and failure of treatment often occurs, progressing eventually into an end-stage otitis. The underlying reasons for otitis are various, and the primary cause may be single or related to other factors. The classification scheme has been adapted and updated within the years, but it is inspired by the original scheme proposed by JR August in 1988, in which for the first time factors, predisposing and perpetuating, were introduced. The inflammation of the ear canal allows the development of an appropriate microclimate for the overgrowth of pathogenic microorganisms. Chronic inflammation status and recurrent otitis, may end in severe modification of the ear canal, and may lead up to ossification. Since medical treatment is not effective in these cases, such modifications become the main reason for surgery. This study was undertaken on canine patients from the veterinary hospital of "Mario Modenato" in S Piero a Grado, Pisa from 2010 until 2014. The aim of this study was to analyze cases of otitis externa to obtain epidemiological results such as signalling, primary causes, predisposing factors and perpetuating factors. Age, sex, breed, primary causes, factors and association between the three pathogens cocci, rods and yeast were all taken in consideration. The largest breed distributions in this study are: Labrador retrievers (12,39%), German shepherd (8,72%), Bulldog (6,42%) and cocker spaniel (4,59%). The 219 dogs that had otitis were diagnosed with: atopic dermatitis (74,43%), parasites (6,85%), foreign bodies (6,39%), endocrinopathy (4,57%), disorders of the pinna (2,74%), otitis media (2,28%), chronic enteritis (1,37%), allergy from flea bites (0,91%), leishmania (0,46%).

## Capitolo 1

### **Otite esterna: generalità**

L'otite esterna è una comune malattia degli animali d'affezione ed è definita come l'infiammazione acuta o cronica del padiglione auricolare e del condotto uditivo esterno.

Ha una prevalenza del 10-20% sulla popolazione canina (Scott, 2001) ed in particolare i più colpiti sono i cani tra i 5 e i 7 anni ed i gatti giovani (Cowell et al, 1996 - Ginel et al, 2002).

L'infiammazione di queste strutture produce una cascata di eventi che rende l'orecchio un ambiente favorevole alla moltiplicazione dei micro-organismi patogeni.

Nei casi di otite esterna l'evento scatenante può essere rappresentato da un singolo agente causale oppure può essere il risultato della somma di più fattori.

La sua eziologia multifattoriale impone un iter diagnostico-terapeutico scrupoloso per identificare ciò che ha determinato o/e contribuito allo sviluppo dell'otite (Scarampella, 2005).

Non essendo una patologia considerata "life threatening", le otiti spesso sono sottostimate e non vengono curate in modo appropriato. Cani e gatti con otite dovrebbero essere sempre sottoposti ad una visita completa allo scopo di individuare l'eventuale causa primaria senza la cui risoluzione rende ogni sforzo terapeutico vano.

Lo stato infiammatorio cronico indotto da infezioni batteriche persistenti possono provocare gravi modificazioni del condotto uditivo dove la pelle s'ispessisce riducendo il lume del condotto e nei casi più gravi si può osservare l'ossificazione della porzione cartilaginea (Diane Bevier, 2009).

Queste modificazioni, poiché la terapia medica risulta inefficace, richiedono interventi chirurgici con la rimozione parziale o totale del condotto.

L'obbiettivo della seguente tesi è stato quello di valutare in via retrospettiva e prospettiva i casi di otite esterna nel cane. A tal proposito, nel periodo di indagine compreso tra gennaio 2010 e maggio 2014 è stata analizzata la popolazione canina affetta da otite esterna e ricercate le probabili associazioni con dati clinico-epidemiologici quali: il segnalamento, l'eziologia, i fattori predisponenti e perpetuanti e l'esito dei trattamenti al fine di comprendere al meglio questa frequente malattia.

## Capitolo 2

### **Anatomia e fisiologia dell'orecchio**

#### 2.1- Anatomia

Lo scopo primario dell'orecchio esterno è quello di raccogliere le onde sonore e trasmetterle alla membrana timpanica.

L'orecchio esterno è composto dal padiglione auricolare ed il meato acustico esterno; quest' ultimo diviso in una porzione verticale ed una orizzontale (Fig.1).

Nel cane la conformazione dell'orecchio esterno varia molto tra le razze. La differenza principale si ha in base alla postura, eretta o pendula. Altre differenze anatomiche sono invece definite in base alla lunghezza, il diametro del canale esterno, dalla presenza o meno di peli all' interno del meato.

Le tre cartilagini che sostengono l'orecchio esterno sono la cartilagine auricolare, la cartilagine anulare e la cartilagine scutiforme.

La prima conferisce rigidità al padiglione ed in corrispondenza dell'apertura del condotto uditivo esterno prende forma d'imbuto. Continua poi nel canale verticale e parzialmente anche in quello orizzontale (Pelagalli, 1999).

A completare il canale orizzontale, la cartilagine auricolare si connette, tramite una lamina fibroelastica alla cartilagine anulare.

La cartilagine scutiforme invece presenta una forma quadrangolare e si spinge dalla base della cartilagine auricolare fino al muscolo temporale. Non prende parte nella conformazione finale dell'orecchio esterno ma serve per la trasmissione al padiglione l'effetto della contrazione di alcuni muscoli auricolari.

Intorno alla cartilagine scutiforme è presente il corpo adiposo dell'orecchio; questo si spinge dal muscolo temporale fino alla base della cartilagine auricolare dove esplica una funzione meccanico-

protettiva e facilita i movimenti del padiglione.



I muscoli che danno motilità all'orecchio sono i due gruppi, rostro-auricolare e caudo-auricolare, ed il singolo muscolo ventro-auricolare (Cole, 2009).

La vascolarizzazione del padiglione è assicurata dalla presenza di numerosi fori nella cartilagine auricolare, che permettono il passaggio di vasi e nervi che decorrono dalla faccia convessa a quella concava.

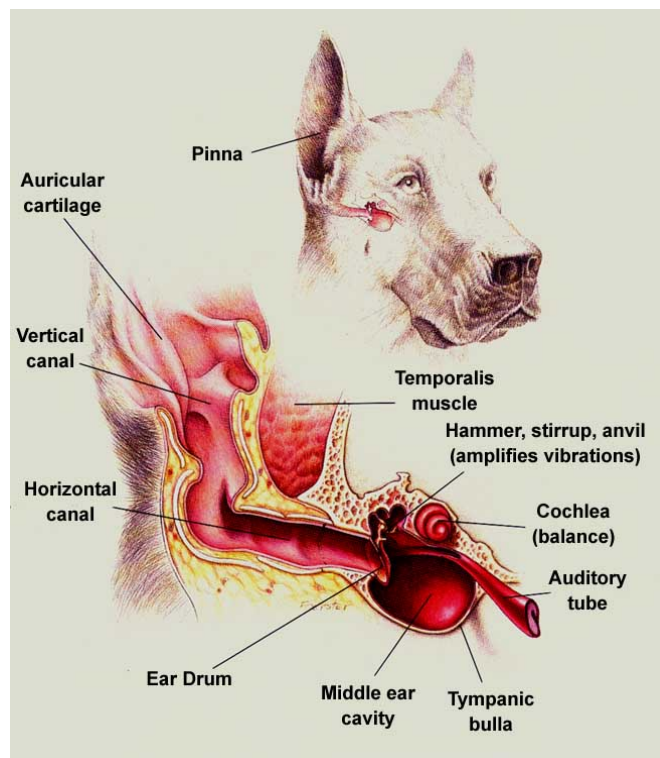


Fig.1 Anatomia dell'orecchio

## 2.2- Anatomia Topografica

Valutando un padiglione auricolare in posizione eretta, è possibile distinguere due facce e due margini, una faccia concava con direzione rostro laterale ed una convessa con direzione caudo-mediale, un margine rostro-mediale ed uno latero-caudale. L'apice è la porzione più distale, termina a punta o meno secondo della razza.

L'intero margine libero del padiglione, fino all'apice, è detto elice.

Questa, sul margine latero-caudale, presenta la sacca cutanea marginale, un diverticolo apparentemente senza nessuna funzionalità, ma presente in tutte le razze (Heine, 2004).

Con scafo viene indicata la faccia interna concava del padiglione, mentre la cavità concale è quella porzione del padiglione auricolare che prende forma d'imbuto in prossimità dell'ingresso al meato acustico esterno. La base è pressoché circolare e si adatta all'orificio del meato acustico esterno. Dalla base numerose cartilagini si propagano nel lume del meato acustico esterno.

L'antielice è un processo cartilagineo trasverso della faccia convessa. Si solleva in direzione rostrale spingendosi nel lume del meato acustico esterno e separa la cavità concale dallo scafo. Dal bordo rostrale prende origine il trago che con andamento irregolare si spinge verso l'interno. Lateralmente a questo, separato dall'incisura intertragica, è presente l'antitrageo, sul quale sono presenti i processi mediale e laterale, delimitati dall'incisura protragica (Fig 2).

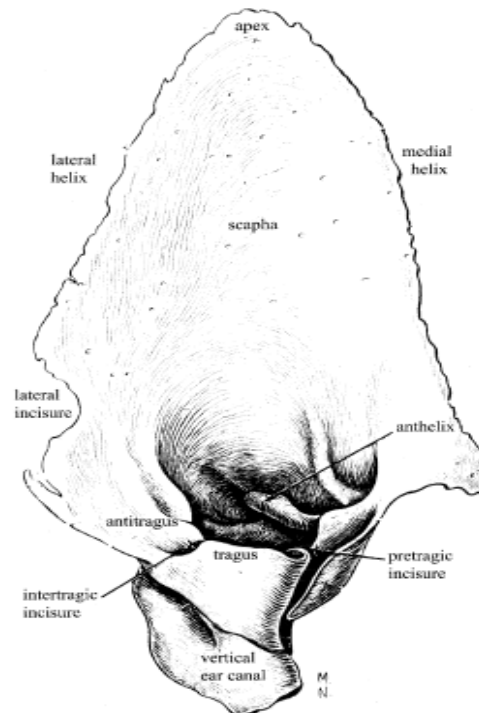


Fig. 2 Le cartilagini auricolari

La cute che riveste il padiglione auricolare ed il condotto uditivo, è strettamente adesa al pericondrio. Contiene follicoli piliferi e numerose ghiandole, tra cui le ghiandole sebacee e ceruminose (ghiandole apocrine modificate).

I follicoli piliferi sono presenti in tutte le razze, ma la loro densità può variare notevolmente secondo la razza.

Esistono differenze di specie ed individuali che possono modificare la densità ed il numero delle ghiandole presenti, ma in linea generale il tessuto ghiandolare aumenta in senso prossimo – distale ed il rapporto tra ghiandole apocrine e ghiandole sebacee decresce in senso prossimo-distale (Evans 1993).

Le ghiandole apocrine ceruminose sono localizzate nella parte più profonda del derma e la loro densità aumenta nella porzione orizzontale del condotto ed in prossimità della membrana timpanica.

Le ghiandole sebacee invece sono più superficiali e più numerose in prossimità dell'orifizio esterno (Cole, 2009)..

Il secreto delle ghiandole apocrine ceruminose è fluido, ricco di fosfolipidi e mucopolisaccaridi.

Il secreto delle ghiandole sebacee invece è costituito essenzialmente da lipidi neutri, questi vanno a costituire poi la maggior parte del cerume.

La loro funzione è quella di coadiuvare il processo di cheratinizzazione dell'epidermide e di intrappolare i detriti che vi si accumulano.

Il secreto quindi, tende ad essere più acquoso nella parte più profonda del meato, in corrispondenza delle ghiandole ceruminose, e più lipidico in prossimità dell'orifizio esterno, in corrispondenza delle ghiandole sebacee.

Questa distribuzione dei secreti, con maggior concentrazione di lipidica tra meato e base del padiglione, potrebbe avere una funzione idrorepellente, proteggendo così il canale auricolare da aumento dell'umidità.

L'orecchio ha il proprio meccanismo di pulizia. La migrazione delle cellule epiteliali dalla membrana timpanica verso l'esterno ha lo scopo di eliminare scaglie, cerume ed altri detriti che tenderebbero ad accumularsi ostruendo la porzione terminale del meato.

### 2.3- Microclima del canale auricolare

Il canale auricolare rappresenta un micro-ambiente particolare in cui anche piccoli cambiamenti, dovuti a svariate cause, possono determinare l'alterazione delle secrezioni auricolari, con conseguente possibilità di insorgenza o peggioramento di processi flogistici.

Per capire meglio queste variazioni è importante conoscere i valori normalmente riscontrati in un orecchio sano.

La temperatura del canale esterno del cane è 38,2-38,4°C (Grono, 1970 - Huang, Shih, Chen, 1998).

Rispetto alla temperatura rettale la temperatura del canale auricolare è in media circa 0,6°C inferiore. Non esistono differenze significative né tra le diverse razze né tra le diverse tipologie di portamento dell'orecchie, pendule o erette.

In generale, anche in soggetti che vivono in zone a clima caldo, la temperatura interna dell'orecchio rimane costante. Questo a dimostrazione che il microambiente del canale è ben protetto dall'ambiente esterno.

In corso di otite esterna invece la temperatura del canale può aumentare fino a 38,9 °C (Huang, Shih 1998).

L'umidità relativa del canale esterno è circa 80,4%. Tale percentuale rimane relativamente stabile durante il corso della giornata, anche in caso di un aumento dell'umidità esterna il massimo aumento che può subire è del 2,3%.

In corso di otite esterna tale valore può innalzarsi fino all'89%.

Non è stata riscontrata alcuna differenza in caso di orecchie pendule o meno (Grono, 1970).

Il range del ph in un cane normale è 4,6-7,2 (Grono, 1970).

La media nei maschi, 6,1, ed è leggermente più bassa rispetto a quella delle femmine, 6,2.

In corso di otite esterna si innalza con valori tra 5,9-7,2 nei casi acuti, 6,0-7,4 nei casi cronici.

#### 2.4- Composizione del cerume

Il cerume è composto dai secreti ghiandolari e da cellule epiteliali di desquamazione (Grono, 1970).

Nella sua composizione inoltre sono state ritrovate immunoglobuline, IgA, IgM e soprattutto le IgG; la loro presenza conferisce così un probabile ruolo immuno-protettivo.

La percentuale della concentrazione lipidica nel canale auricolare normale varia da 18,2 a 92,6%, con una media 49,7% (Huang, Little 1994).

Questa estrema varietà riscontrata riflette le differenze individuali dei soggetti, sia nella concentrazione che nell'attività delle ghiandole stesse.

In caso di otite cronica, in risposta all'ipertrofia delle ghiandole apocrine, la concentrazione lipidica diminuisce fino a 24,4% (Huang, Little 1994).

La diminuzione del cerume in corso di otite, oltre a diminuire l'attività antibatterica, può influire sull'incremento dell'umidità relativa (Knapp, Melly, 1986); questi due fattori se associati aumentano notevolmente la probabilità di moltiplicazione batterica.

#### 2.5- Normale flora del canale uditivo esterno

La flora batterica residente del condotto uditivo sano è principalmente di tipo Gram +.

È costituita prevalentemente da stafilococchi coagulasi-positivi e stafilococchi coagulasi-negativi, Corinebatteri spp e più raramente Coliformi, Pseudomonas spp e Proteus sp. (Scarampella, 2005).

La maggior parte dei batteri sono localizzati nella porzione verticale del condotto.

Tra i miceti, invece, ritroviamo *Malassezia pachydermatis* e *Candida* (Scarampella, 2005).

## Capitolo 3

### **Principali cause di otite**

Nel corso degli anni sono state usati diversi tipi di sistemi per classificare e diagnosticare l'otite esterna.

Uno degli schemi più importanti fu quello proposto da JR August, che per primo riportò nella classificazione non solo le cause ma anche i fattori, distinti in predisponenti e perpetuanti.

La difficoltà nell'identificare la causa scatenante di un'otite è data infatti dalla sua natura multifattoriale. Può essere data sia da un singolo agente causale che dalla risultante di più fattori che interagiscono tra loro (Angus, 2005).

Nel corso degli anni questo schema è stato aggiornato e modificato, ma rimane comunque un punto saldo nello studio eziologico delle otiti (Randall, 2005).

Le cause sono le patologie o le noxae patogene che inducono un'otite; vengono suddivise in primarie e secondarie.

I fattori invece sono elementi della malattia o dell'animale stesso che contribuiscono e promuovono lo sviluppo dell'otite. Sono classificati in predisponenti e perpetuanti.

I fattori, associati alle cause primarie, possono aumentare i sintomi, l'infiammazione e compromettere la corretta risposta terapeutica (Miller et al, 2013).

#### 3.1- Fattori predisponenti

I fattori predisponenti sono quei fattori che incrementano il rischio di otite esterna e sono presenti nel soggetto prima della manifestazione clinica dell'otite.

Questi fattori da soli non sono in grado di causare la malattia, tuttavia se associati ad una causa primaria o ad altri fattori predisponenti, contribuiscono al suo sviluppo e ne favoriscono le ricadute.

Fattori predisponenti relativi all'ospite sono la razza, le conformazioni anatomiche dell'orecchio, come le orecchie pendule, la presenza eccessiva di peli e la stenosi del canale auricolare; anche le abitudini dell'animale, come per esempio l'abitudine a bagni frequenti, può causare la macerazione dello strato corneo nel canale auricolare, rimuovendo così la normale barriera protettiva nei confronti di infezioni secondarie e favorendo la proliferazione di microflora opportunistica (inoltre l'eccessivo lavaggio del canale stimola l'attività delle ghiandole ceruminose, portando ad un'otite esterna ceruminosa); le patologie ostruttive, come polipi e tumori nel canale auricolare possono causare il mancato drenaggio predisponendo l'orecchio ad infezioni.

Altri fattori predisponenti sono quelli iatrogeni, tra cui l'errata procedura della pulizia, l'eccessiva rimozione di peli o l'uso di prodotti topici inappropriati.

Anche l'immuno-soppressione del soggetto è da considerare come, d'altronde lo è per ogni malattia, un fattore predisponente.

### 3.2- Fattori perpetuanti

I fattori perpetuanti sono invece tutti quei fattori che causano il perpetuarsi della patologia nel corso del tempo, ma non sono direttamente responsabili dell'inizio dell'otite. Sono principalmente tutti i cambiamenti dell'anatomia e della fisiologia dell'orecchio che sopravvivono in corso di otite esterna. In particolar modo in corso di otite cronica, le alterazioni patologiche che ha subito il condotto uditivo sono l'edema e la fibrosi del derma, l'iperplasia e l'ectasia delle ghiandole ceruminose, l'iperplasia delle ghiandole sebacee e le alterazioni della membrana timpanica. L'otite media è stata riscontrata nel 16% dei cani con otite esterna acuta e nel 52% dei cani con otite esterna cronica (Miller et al, 2013). La loro presenza favorisce lo sviluppo di otiti secondarie, rallentando e ostacolando la risoluzione della patologia (Miller et al, 2013)



L'otite media può originare dall'estensione dell'otite esterna attraverso la rottura della membrana timpanica. Questa è la forma più comune riscontrata nei cani e come tale è considerata come un fattore perpetuante delle otiti esterne ricorrenti.

L'otite media può anche essere una patologia primaria e non necessariamente sviluppa una concomitante otite esterna; può infatti originare da patogeni che sopraggiungono sia dalle tube di Eustachio che per via ematogena (Edmund J. Rosser 2004). In questi casi la sintomatologia è di tipo neurologica (Miller et al, 2013).

### 3.3- Cause primarie

Le cause primarie sono quelle cause che hanno la capacità intrinseca di scatenare un processo infiammatorio nel canale uditivo di un cane sano, senza che siano presenti altri agenti (August 1988). Spesso la causa primaria non è facilmente identificabile; può passare inosservata sia al proprietario sia al veterinario al momento della visita. In questi casi la causa primaria può creare le condizioni ideali per lo sviluppo di infezioni secondarie, le quali, al momento della visita, saranno più facili da identificare e trattare (Miller et al, 2013). Le cause secondarie sono infatti quelle cause che creano una patologia in un orecchio ormai alterato. Il loro trattamento è essenziale per la risoluzione della patologia, ma non devono essere considerate come cause primarie.

Tra le cause primarie abbiamo:

1. L'ipersensibilità data da atopia, allergia alimentare o allergia da contatto
2. Parassiti quali gli acari della rogna otodettica, sarcoptica e demodettica
3. Corpi estranei
4. Disordini della cheratinizzazione - Endocrinopatie
5. Neoformazioni

### 1) Ipersensibilità: dermatite atopica e allergie alimentari

La causa primaria più comune di otite esterna sono le allergie di tipo alimentare e la dermatite atopica.

Nell'80% dei soggetti che manifestano allergie alimentari, viene anche diagnosticata un'otite esterna, che nel 25% dei casi rappresenta anche l'unico sintomo riscontrabile (Rosser, 1993).

Nel caso in cui si presenti un animale particolarmente giovane, con una forma di otite cronica, o un soggetto anziano, con otite acuta mai manifestata in precedenza, è più probabile che il problema sia riferibile ad un'allergia alimentare piuttosto che ad un'atopia (Murphy, 2001).

L'atopia infatti è una patologia complessa, d'origine sia genetica che ambientale, che si manifesta principalmente nei cani con età compresa tra 1 e i 3 anni (Harvey, McKeever 2002).

La patologia porta ad un'ipersensibilità verso antigeni a cui normalmente l'organismo non reagisce.

I sintomi iniziali sono generalmente l'eritema e il prurito della pelle. Le classiche regioni colpite sono muso, orecchie, ascelle, spazi interdigitali, fianchi ed inguine.

Secondarie all'autotrauma spesso si creano lesioni cutanee come ulcere, croste, lichenizzazioni, iperpigmentazioni, alopecia e "macchie" da leccamento; inoltre sono frequenti i casi di piodermititi secondarie e dermatiti da *Malassezia* (Harvey, McKeever 2002).

L'otite esterna invece interessa circa il 55% dei cani affetti da dermatite atopica e nel 3-5% dei casi l'otite esterna è il solo rilievo clinico (Griffin, DeBoer 2001).

L'ipersensibilità verso gli antigeni causa un'inflammatione osservabile sotto forma di eritema diffuso del padiglione e del canale auricolare esterno.

Il canale auricolare orizzontale non è necessariamente coinvolto, se non nel caso in cui intervengano fattori secondari a causare l'estensione dell'infiammazione anche nella porzione più profonda del canale (Rosser, 2004). In tal caso, l'associazione tra la reazione allergica e l'infezione secondaria porta ad un rapido e progressivo deterioramento del quadro clinico.

Nei casi più gravi la presenza cronica di allergeni, batteri e lieviti causano fibrosi ed ossificazione, portando infine alla stenosi completa del lume. In razze come il Cocker spaniel è stata anche osservata l'iperplasia delle ghiandole ceruminose.

## 2) Parassiti

L'*Otodectes cynotis* (Fig 3-4) è un acaro che rappresenta il 50% delle cause di otite del gatto, mentre nel cane si stima che ne causi solo il 5-10% (Scott et al, 2000).

Si manifesta con un essudato nero o marrone scuro, tendenzialmente asciutto. Nei casi cronici però può instaurarsi un'infezione secondaria dove la sovraccrescita di lieviti o batteri produrrà un essudato di tipo ceruminoso o purulento.

Un altro parassita dell'orecchio è il *Demodex canis*, commensale permanente dell'apparato pilo-sebaceo che può causare un'otite ceruminosa (Fig.5).

L'otodemodicosi viene generalmente osservata in corso di demodicosi generalizzata, ma occasionalmente può essere la sola localizzazione della parassitosi.

La demodicosi è la conseguenza clinica dell'incapacità dell'ospite di controllare la proliferazione di tali parassiti; vede tra le cause predisponenti la predisposizione genetica, l'età, i difetti immunologici congeniti o acquisiti, lo stress, la denutrizione, l'estro, la gravidanza, la lattazione, altre malattie e i trattamenti immunosoppressivi.

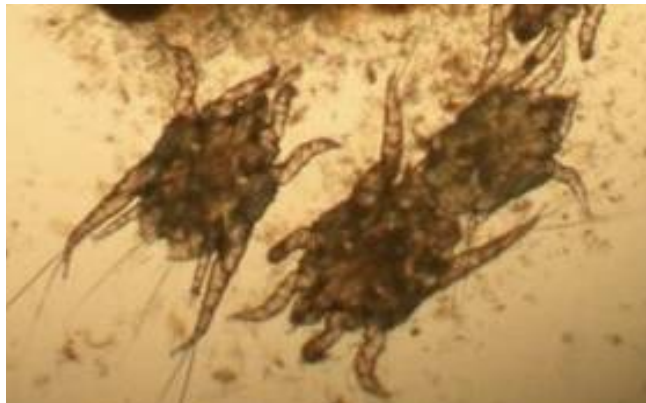
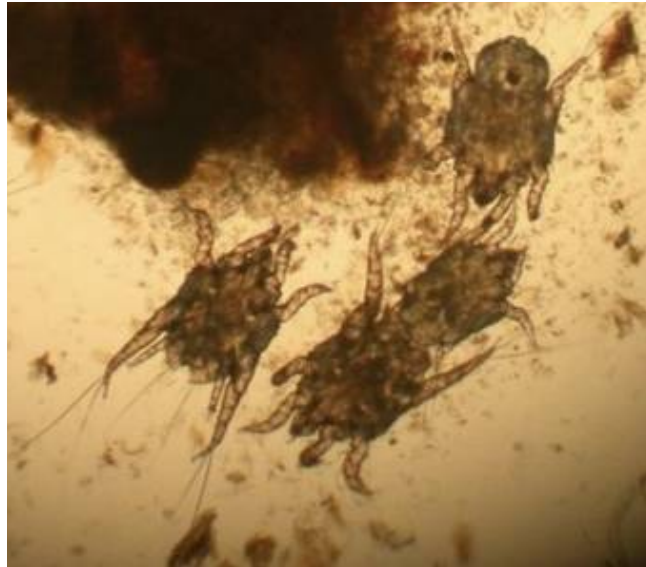


Fig 3: *Otodectes cynotis*

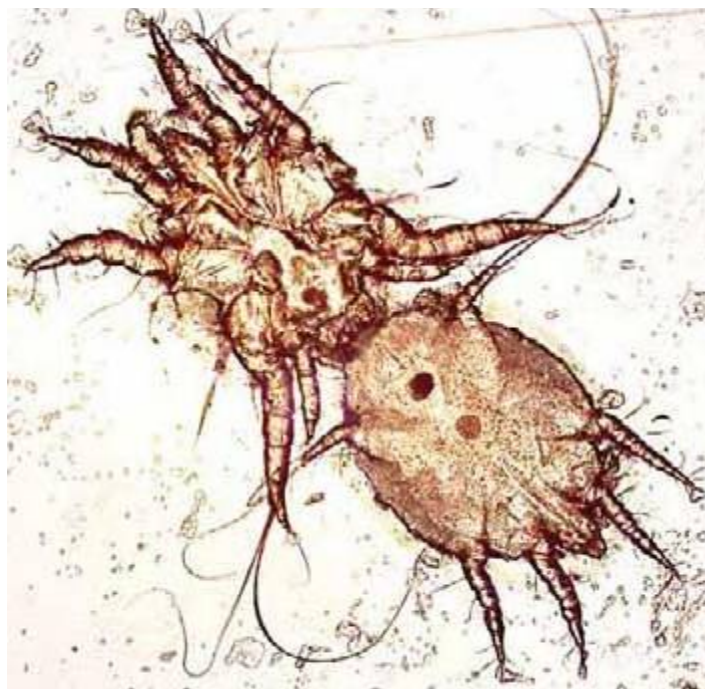


Fig 4: *Otodectes cynotis*



Fig.5 *Demodex canis*

Parassiti come *Sarcoptes scabiei*, *Notoedres cati*, *Cheyletiella spp*, e *Eutrombicula spp* causano invece l'infiammazione e il prurito del padiglione auricolare e dell'area circostante. L'otite esterna che si manifesta durante queste infestazioni è solitamente secondaria all'autotrauma e alle infezioni batteriche conseguenti.

### 3)Corpi estranei

In genere i corpi estranei sono di natura vegetale, come le ariste di graminacee o “forasacchi”, sabbia, legnetti etc., ma anche peli, tappi di cerume o residui di medicamenti topici possono esserlo. La maggior parte delle volte il corpo estraneo non è visibile durante la visita clinica. Talvolta può essere ricoperto interamente dall'abbondante cerume prodotto in risposta alla flogosi ed essere eliminato insieme a questo senza che sia riconosciuto. Nel caso di corpi estranei vegetali, potrebbe aiutare nella diagnosi, considerare anche la stagione d'insorgenza.

La tipica manifestazione da corpo estraneo è un'otite acuta monolaterale, che se non risolta tempestivamente, evolve facilmente in otiti batteriche secondarie con produzione di essudato purulento (Murphy, 2001).

I corpi estranei rappresentano un grave pericolo in quanto hanno la capacità di penetrare e migrare in profondità fino ad arrivare al timpano. In caso di lesione timpanica si ha anche il rischio di sviluppo di un'otite media (Murphy, 2001).

### 4) Disordini della cheratinizzazione ed endocrinopatie

La seborrea idiopatica (seborrea primaria o dermatite seborroica) è un disordine della cheratinizzazione ereditario. È un facile riscontro in particolari razze come American Cocker spaniels, English Sprinter spaniels, West Highland White terriers, e Basset hounds.

I primi sintomi si manifestano già nel cucciolo dove il pelo ha in generale un aspetto scadente. Pelo secco, forfora, scaglie, croste epidermiche, cute maleodorante e grassa, sono le manifestazioni cliniche che si presentano su tutto il corpo.

Piodermiti e otiti causate da batteri e *Malassezia* sono di facile riscontro in questi casi.

L'otite esterna associata a seborrea idiopatica è un'otite ceruminosa. È causata dall'iper-proliferazione delle ghiandole sebacee con il conseguente aumento degli acidi grassi e decremento degli esteri dell'epidermide (Logas, 1994; Murphy, 2001). Questi cambiamenti pato-fisiologici, in associazione con una ritardata desquamazione e la stenosi del canale auricolare, causano l'aumento della produzione di cerume e l'alterazione della sua composizione (Logas, 1994). Anche le endocrinopatie come l'ipotiroidismo e i disordini degli ormoni sessuali, possono portare a modificazioni della cheratinizzazione epidermica e all'aumentata produzione di secreto da parte delle ghiandole ceruminose, determinando quindi l'insorgenza di otiti ceruminose (Rosser, 2004 – Miller et al, 2013). Le patologie autoimmuni come il pemfigo fogliaceo, pemfigo eritematoso, lupus eritematoso sistemico (LES) e le vasculiti spesso creano un quadro infiammatorio accompagnato da lesioni di varia natura del padiglione auricolare. Talvolta la flogosi, dal padiglione auricolare, si estende anche al canale auricolare provocando un'otite esterna (Rosser, 2004).

##### 5) Neoplasie e polipi

Le neoformazioni devono essere considerate come lesioni ostruttive, che impediscono la normale eliminazione di cerume. L'accumulo che si instaura favorisce l'irritazione dell'epitelio aumentando la possibilità dell'insorgenza di otiti (Logas, 1994). Le neoplasie più frequenti del canale auricolare del cane sono l'adenoma/adenocarcinoma delle ghiandole ceruminose ed il carcinoma a cellule squamose. Questi possono dare origine a forme ulcerativo/necrotiche del rivestimento epiteliale, causando gravi infiammazioni (Logas, 1994).

La cartilagine auricolare tende ad essere una barriera fisica che impedisce una metastasi. La chirurgia in questi casi permette una completa escissione, ma nel caso in cui il tumore si espanda oltre la cartilagine auricolare la prognosi diventa sfavorevole in quanto in questo caso l'escissione non permette la completa rimozione della massa (Angus, 2004).

Il polipo sono neoformazioni di probabile origine congenita o virale che colpisce i giovani soggetti. Il gatto in particolare presenta spesso il polipo infiammatorio naso-faringeo. I polipi possono estendersi dalla tuba di Eustachio al meato acustico e la sintomatologia varia in funzione della struttura anatomica interessata e del volume della massa. Quando il meato acustico è occupato dalla neoformazione, il processo infiammatorio associato provoca l'accumulo di un essudato con caratteristiche variabili. Il prelievo tramite tampone anche in questo caso può mettere in evidenza solamente neutrofili, macrofagi ed altri mononucleati. Il prelievo tramite agoaspirazione permette di osservare cheratinociti di aspetto normale e cellule colonnari ciliate con nuclei basali. Se il polipo invece ha origine nella cavità timpanica, il cane oltre ad una sintomatologia nervosa, come head tilt, nistagmo, sindrome di Horner o atassia, può manifestare un'otite esterna con cerume purulento o emorragico.

#### 3.4- Cause secondarie

Le cause secondarie causano un'otite esterna in orecchie già anormali e debilitate. Le cause secondarie sono state precedentemente associate ai fattori perpetuanti. È stato ritenuto opportuno separarle in quanto a differenza dei fattori perpetuanti, che hanno solo la capacità di far prolungare il processo patologico, le cause secondarie possono causare direttamente l'infiammazione (Miller et al, 2013).



Anche il loro trattamento è differente. Le cause secondarie sono infatti più facili da debellare rispetto a fattori perpetuanti e talvolta il solo controllo dei fattori predisponenti e l'eliminazione delle cause primarie, può portare alla risoluzione delle cause secondarie (Miller et al, 2013). Fisiologicamente il canale auricolare è colonizzato da vari microrganismi. Questi in presenza di flogosi e lesioni dell'orecchio, agiscono come opportunisti che possono proliferare eccessivamente e facilitare la comparsa di otite esterna.

#### - Batteri

Batteri comunemente isolati in corso di otite esterna sono i gram positivi *Staphylococcus pseudointermedius* e i gram negativi *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *E.coli*, *Klebsiella spp* (Miller et al, 2013). In caso di otite batterica cronica o ricorrente, il patogeno opportunisto più comune è *Pseudomonas aeruginosa* (Edmund J. Rosser 2004). Questo batterio infatti si adatta perfettamente all'ambiente caldo-umido di un orecchio occluso dall'iperplasia della pelle e l'iperstimolazione delle ghiandole ceruminose (Miller et al, 2013).

#### - Malassezia

*M. pachydermatis* viene isolata comunemente dal condotto uditivo di cani sani, ma in particolari condizioni può proliferare eccessivamente e, da sola o in associazione con i batteri, può essere causa di un'otite eritematosa e ceruminosa. La malasseziosi si riscontra nel 62% dei casi di otiti, spesso in associazione con *Staphylococcus spp.* (Miller et al, 2013). Come fattore predisponente dobbiamo considerare i frequenti bagni e tra le cause primarie le allergie. Oltre alla colonizzazione da parte della *Malassezia pachydermatis*, nella sovraccrescita dei lieviti nel canale auricolare, possiamo riscontrare anche la presenza anche di *Candida spp* (Graham-Mize, 2004 – Rosser, 2004).

## Capitolo 4

### **Approccio diagnostico all'otite esterna**

#### 4.1- Anamnesi

La visita clinica di un paziente con sospetta otite esterna, inizia sempre con un'accurata anamnesi.

La razza in particolare, l'età ed in minore misura il sesso devono essere prese in considerazione alla luce delle indagini epidemiologiche che hanno permesso di identificare la prevalenza delle otiti in talune razze ed in certe fasce di età (Miller et al, 2013). Ai fini della completa raccolta anamnesticca devono essere poste diverse domande al proprietario. È infatti utile avere più informazioni possibili riguardo al cane e la sua storia clinica, con particolare attenzione agli eventuali problemi dermatologici del cane. Nella raccolta dell'anamnesi è consigliabile partire con domande generiche, come le abitudini quotidiane del cane, se nuota o frequenta zone boschive, la presenza o meno di malattie o patologie diagnosticate in precedenza e se i proprietari sono a conoscenza di analoghe problematiche patite da parenti del loro cane. Le domande invece più specifiche da chiedere al proprietario sono se l'animale ha mai avuto problemi dermatologici, ed eventualmente a che età si è presentato il problema; quale era il loro aspetto iniziale e se erano associate a prurito; se il problema è più evidente in particolari periodi dell'anno o in determinate condizioni ambientali, quindi se esiste o meno una certa stagionalità del problema dermatologico; se, in caso di convivenza con altri animali cani o gatti, anche questi hanno mai avuto problemi dermatologici simili. Altre domande si focalizzano invece sull'attenzione che il proprietario stesso ha per l'animale e i suoi cambiamenti; per esempio se sono state notate o meno alterazioni dell'epidermide, come il colore, la perdita di pelo, l'odore e la presenza di scaglie oppure se si gratta, si scuote la testa, si mordicchia o si strofina sulle superfici più del normale.

Nel caso in cui sono già state intraprese terapie farmacologiche, è importante conoscere quali sono state usate e che tipo di risultati sono stati ottenuti. Di particolare importanza, inoltre, è conoscere se viene eseguita regolarmente la profilassi per parassiti esterni come pulci e zecche (Rosser, 2004).

#### 4.2- Esame obbiettivo generale e speciale

Dopo un'accurata anamnesi si procede con l'esame fisico.

Un corretto esame fisico deve includere un'attenta ispezione dei padiglioni e la palpazione dei condotti. L'esame deve essere bilaterale, anche nel caso in cui le indicazioni iniziali possono suggerire un'otite monolaterale (Noxon, 2009).

Con l'osservazione della zona periauricolare e del padiglione possono essere osservati l'eritema, iperpigmentazione, lichenificazione, abrasioni, graffi, croste, aree alopeciche (indice di prurito) e flogosi. Questa prima fase deve permetter di determinare l'eventuale presenza di cerume abbondante, pus e quant'altro sia anormale come pulci, zecche etc.. La palpazione è volta al rilievo di dolore, ispessimento o calcificazione della cartilagine (Rosychuk, 1994).

#### 4.3- Esame otoscopico

L'esame otoscopio del canale auricolare e della membrana timpanica, è la prima procedura diagnostica che dovrebbe essere effettuata sui cani che manifestano otite esterna (Rosychuk, 1994). Lo scopo dell'esame otoscopico è quello di inquadrare il tipo d'otite presente, valutando lo stato della pelle, l'eritema, la presenza di cerume o essudato, di masse o corpi estranei e l'aspetto ed integrità del timpano (Lynette, 2004).

Con l'esame otoscopico, infatti, viene ricercata la presenza o meno di alterazioni, come eritema, stenosi, ulcere e la presenza di polipi, tumori e corpi estranei. Viene inoltre valutata la presenza, la consistenza e il colore del cerume.

L'esame deve esser svolto su entrambe le orecchie, preferibilmente partendo dall'orecchio apparentemente meno grave.

Un animale non cooperativo impedisce la corretta visualizzazione del canale. Per eseguire un corretto esame otoscopico, l'animale dovrebbe essere ben immobilizzato ed in caso di dolore acuto potrebbe anche essere necessaria una sedazione prima di svolgere l'esame. Quando invece il condotto non è visualizzabile per la presenza di cerume o essudato, il canale va liberato con l'uso di soluzioni ceruminolitiche, soluzione fisiologica e tamponi. In tal caso il prelievo del materiale per l'esame citologico e/o batteriologico deve essere eseguito prima.

La procedura dell'esame otoscopio prevede che la punta del cono dell'otoscopio sia posizionata nell'incisura intertragica.

Per visualizzare l'intero canale auricolare e la membrana timpanica, durante inserimento dell'otoscopio, il canale esterno dev'essere esteso su se stesso. Afferrando il padiglione auricolare, tirandolo lateralmente e verso l'alto, si ha infatti l'allineamento del canale verticale con quello orizzontale. Inoltre, per una corretta visualizzazione del timpano, è necessario effettuare anche una lieve rotazione dell'otoscopio in senso rostro dorsale.

Valutazione del canale auricolare e della membrana timpanica:

L'aspetto normale del canale auricolare è caratterizzato da una cute liscia con una colorazione rosa-chiaro ed una lieve presenza di essudato. Il diametro dell'apertura del canale verticale varia molto a seconda della razza valutata, mentre la misura del canale orizzontale oscilla tra 5 e 10 mm (Getty et al. 1956).

Talvolta, secondo la razza, può essere presente o meno peluria davanti alla membrana timpanica.

La membrana timpanica è traslucida, sottile nel centro e spessa nella periferia. È divisa tramite la stria mallearis in due parti, la pars flaccida superiore e la pars rigida inferiore.

La pars flaccida contiene piccoli vasi sanguigni che gli conferiscono una colorazione rossastra, mentre la pars rigida, è una struttura grigio perlacea con strie radiali ben adesa ai tessuti sottostanti (Getty et al. 1956). L'infiammazione causata da un'otite esterna ha come risultato finale un edema ed un eritema del canale auricolare (Logas, 1994). Clinicamente l'edema si manifesta con la stenosi parziale del canale auricolare, mentre dal punto di vista istopatologico viene osservata l'iperplasia dell'epidermide (Chaudhary et al. 2002). Anche le ghiandole sebacee in corso d'infiammazione sono alterate; l'ipersecrezione che si nota, infatti, riflette il loro aumento di volume (Fernando 1967). Durante l'infiammazione si ha una notevole infiltrazione nell'epidermide e nel derma di cellule infiammatorie; tale infiltrazione rende necessario l'uso di farmaci antinfiammatori. Questi possono essere di tipo steroideo o non e ad uso orale o topici, a seconda del quadro clinico e collaborazione del cane. I glucocorticoidi sono importanti soprattutto nelle prime fasi d'otite esterna perchè modulano e diminuiscono la progressione dei fenomeni proliferativi del canale auricolare. Oltre ad avere un effetto antinfiammatorio sono anche indicati per ridurre il dolore spesso presente. Col progredire della patologia i tessuti sotto cutanei s'ispessiscono portando al progressivo restringimento del canale auricolare (Fraser, 1961).

Le ghiandole sebacee degenerano, allungandosi e diventando prive di qualsiasi struttura cellulare, perdono la loro attività secretoria.

Le ghiandole sudoripare apocrine invece aumentano di volume ed i dotti secretori talvolta vengono occlusi da cheratina e secrezioni.

In alcuni casi quindi anche le ghiandole apocrine vanno incontro ad atrofia e degenerazione (Fernando 1967, Chaudhary et al. 2002,

Roth 1988). Con il tempo, il perpetuarsi dell'infiammazione porta alla calcificazione e all'ossificazione delle cartilagini auricolari ed in particolare del condotto. Uno studio recente ha riportato che i cambiamenti che avvengono durante un'otite cronica, possono essere in relazione con la razza; l'iperplasia e la dilatazione delle ghiandole apocrine, si manifesta in più del 70% dei Cocker Spaniel, mentre in altre razze esaminate si manifesta con una percentuale del 31% (Angus, 2002). Una volta che si instaurano tali modificazioni strutturali, l'uso di antinfiammatori non produce alcun risultato, in tal caso si ricorre ad un intervento chirurgico.

Talvolta, in caso d'otite esterna ricorrente, durante l'esame otoscopico la visualizzazione della membrana timpanica risulta difficile se non impossibile.

In questi casi può essere utile un'accurata pulizia del canale.

Se sono presenti ulcere o parziali stenosi del canale, sarà utile anche il supporto di una terapia, orale o locale, di glucocorticoidi per diminuire l'infiammazione e permettere la corretta pulizia del canale (Lynette, 2004).

La pulizia del canale serve anche per rimuovere qualsiasi essudato che, oltre a mascherare la presenza di corpi estranei o tumori, rappresenta il focolaio d'infezioni capaci di diminuire l'azione di farmaci, quali per esempio la gentamicina (Noxon, 2009).

L'esame otoscopico può mettere in evidenza corpi estranei di varia natura, neoplasie e ulcerazioni dell'epidermide, lesioni frequenti in corso di infezioni da Gram negativi come lo *Pseudomonas aeruginosa* (Gotthelf, 2000).

La presenza di corpi estranei nel canale auricolare, si manifesta con dolore acuto monolaterale.

Talvolta è necessario effettuare la loro rimozione, sotto anestesia generale, specialmente se questi sono a ridosso della membrana

timpanica. In caso di rottura del timpano l'animale può sviluppare infatti un'otite media. L'incidenza dell'otite media è del 16% nei cani con otite esterna acuta (Spreull, 1964), mentre in cani con otite esterna cronica, fino al 88,9 % (Cole et al, 2002).

Durante l'esame otoscopico, l'eccessiva quantità di essudato deve essere accuratamente valutata, con particolare attenzione alla quantità, al colore e alla consistenza. Dal tipo d'essudato si possono dedurre indizi sulla tipologia di patogeni coinvolti, ma l'esame citologico e l'esame batteriologico sono le procedure necessarie per confermare la loro natura.

#### 4.4- Esame citologico

L'esame citologico del materiale auricolare è di facile esecuzione, rapido ed economico. Dovrebbe essere sempre effettuato su entrambe le orecchie, non solo durante la prima visita clinica, ma anche ad ogni visita di controllo successiva.

Le informazioni che si possono ottenere sono di grande aiuto ai fini dell'interpretazione generale delle cause del processo infiammatorio, della scelta degli altri esami da eseguire, della scelta terapeutica ed infine per monitorare l'andamento della malattia.

Il veterinario spesso può cercare di arrivare a conclusioni diagnostiche tramite una valutazione grossolana del materiale prelevato, basandosi sull'apparenza e l'odore piuttosto che sull'esame citologico. L'infezione da *Otodectes cynotis*, infatti, è comunemente associata a cerume asciutto, scuro e granuloso; infezioni sostenute da batteri invece presentano un pus di colore giallo o marrone chiaro, mentre quelle sostenute da *Malassezia* hanno un essudato scuro e consistente (Kowalski, 1988).

Queste nozioni però non sono ritenute affidabili e la valutazione citologica dell'essudato è strettamente necessaria per la formulazione di una diagnosi e terapia mirata (Harvey et al, 2001 e Scott et al, 2000).

Il campione deve essere raccolto prima di qualsiasi tipo di trattamento topico. Il campione citologico si ottiene con un tampone auricolare inserito nella porzione più vicina possibile al canale orizzontale; da questo tratto si ottiene materiale clinicamente più rilevante rispetto a quello verticale (Chickering, 2004 e Harvey et al, 2001).

Con la stessa metodologia, oltre all'esame citologico, è possibile eseguire un colturale batterico. Questo esame però è necessario solo nel caso in cui si voglia determinare lo specifico agente eziologico batterico, specialmente nel caso in cui i classici protocolli terapeutici sono falliti o nel caso d'otite esterna ricorrente (Noxon, 2009).

#### <sup>35</sup><sub>17</sub> *Metodologie di prelievo di materiale dal canale auricolare*

I prelievi, devono essere sempre eseguiti da entrambe le orecchie. Questo permette sia il confronto tra l'orecchio sano e quello patologico che un'eventuale alterazione citologica nell'orecchio ritenuto apparentemente sano. È necessario valutare entrambe le orecchie anche in caso d'otite bilaterale, dove spesso si rilevano differenze nella popolazione di batteri o lieviti (Cole, 1998 e Colombini et al, 2000).

Il prelievo del materiale dal canale auricolare può essere eseguito tramite tampone o un piccolo cucchiaino di Wolkman.

Il tampone dovrebbe essere dotato di un manico lungo e flessibile allo scopo di raggiungere anche le porzioni più profonde dell'orecchio, mentre non dovrebbero essere usati quelli con manico di legno perché durante le manualità potrebbero spezzarsi.

Il prelievo tramite tampone può essere usato in tutte le forme di otite ed è certamente il metodo migliore per prelevare l'essudato, mentre ha qualche limite per il prelievo di cerume da usare per la ricerca dei parassiti.



In tal caso per ottenere un cospicuo quantitativo di materiale sarebbe opportuno anche prelevare la porzione più superficiale dello strato corneo. A questo scopo è senza dubbio più utile l'utilizzo del cucchiaino di Wolkman con cui è possibile eseguire un delicato raschiato dell'epidermide del condotto. Le operazioni di prelievo del materiale non sono difficoltose nei cani di buona taglia e che non hanno dolore. In questi soggetti pertanto possono essere seguiti con il soggetto in stazione quadrupedale. Negli altri è necessario che siano contenuti al meglio o se necessario tramite anestesia generale.

In particolare, nei casi di supposta otite batterica, è strettamente necessario che il tampone auricolare venga inserito in profondità per poter prelevare materiale dalla porzione orizzontale, a ridosso del timpano. Il materiale prelevato in corso d'otite fornirà quadri citologici molto differenti da caso a caso e talvolta, nello stesso individuo, anche da orecchio ad orecchio. Il quadro citologico varia in funzione della durata della malattia, della gravità del processo infiammatorio e del tipo di flora microbica.

#### <sup>35</sup><sub>17</sub> *Allestimento del preparato*

Con il campione prelevato si effettuano due tipi di esami, uno parassitologico, a fresco, e uno citologico, previa colorazione.

Il cerume destinato all'esame parassitologico deve essere asportato dal tampone o cucchiaino tramite la punta di un bisturi o con l'ausilio di un vetrino coprioggetti.

Il cerume, una volta posizionato su un vetrino portaoggetti, deve essere accuratamente mescolato con olio minerale e coperto con un vetrino coprioggetto.

L'osservazione microscopica diretta ad ingrandimento 4-10X permette di rilevare l'eventuale presenza dei parassiti adulti e/o loro forme immature.

Per allestire il preparato destinato all'esame citologico, il tampone, intriso d'essudato o ricoperto di materiale ceruminoso, deve essere rotolato su un vetrino portaoggetti su più linee parallele ed in un solo senso. Su un unico vetrino possono essere strisciati i prelievi dei due orecchie, prestando attenzione a non sovrapporli. Per comodità il materiale prelevato dal meato di destra andrà posto sul lato destro del vetrino e viceversa per l'altro. In questo modo potranno essere rapidamente confrontati al microscopio i quadri citologici d'entrambe le orecchie.

Essendo il materiale prelevato ricco di lipidi, prima di compiere la colorazione, il materiale strisciato sul vetrino dovrà essere fatto essiccare tramite phon o scaldando su una fiamma la parte inferiore del vetrino, allo scopo di fissarlo senza perdere eventuali informazioni durante l'uso del solvente nella colorazione.

La colorazione del preparato destinato all'esame citologico può essere eseguita con coloranti rapidi (Diff-Quick, etc) oppure con la metodica May Grunwald-Giemsa per visualizzare di tutti gli elementi cellulari (Cole, 2002).

La colorazione di Gram, sebbene laboriosa, sarebbe d'aiuto per la differenziazione dei batteri Gram positivi e Gram negativi e per fornire indicazioni di massima al laboratorio di batteriologia per gli esami colturali. Una volta colorato il vetrino sarà sciacquato e fatto asciugare.

A questo proposito deve essere enfatizzato il ruolo della citologia nel rilevare la presenza di batteri e lieviti in quanto l'esame microscopico del cerume ha un'ottima sensibilità nella determinazione generica del tipo di flora microbica.

### <sup>35</sup><sub>17</sub> *Esame microscopico*

Il preparato deve essere osservato dapprima a 10-20X allo scopo di verificarne la qualità e la distribuzione degli elementi cellulari ed in

seguito ad ingrandimento maggiore progressivo sino a 100x, in particolare per visualizzare perfettamente i batteri e le malassezie.

L'ingrandimento x40 è ideale per la visualizzazione di leucociti, globuli rossi, cellule epiteliali, lieviti e batteri di grande dimensione.

Dopo aver valutato il vetrino ad ingrandimento 20-40X si deve osservare il preparato a 100X. Con questo ingrandimento si può valutare caratteristiche morfologiche dei batteri e il citoplasma dei neutrofili e macrofagi che possono aver fagocitato i batteri.

### Qualità del cerume

Il cerume prelevato da un orecchio sano è di colore chiaro, ha un elevato tenore in lipidi e contiene scarse cellule epiteliali. All'esame microscopico pertanto sarà possibile visualizzare materiale amorfo traslucido che non ha assunto il colorante, data la sua natura lipidica ed alcune cellule dello strato corneo. Su queste cellule, che rappresentano le porzioni più superficiali dello strato corneo naturalmente sfaldate, sono adesi in numero limitato batteri a forma di cocco e rare malassezie.

In corso di otite sostenute da *Otodectes cynotis*, *Malassezia* e sovrappopolazione batterica, il cerume può assumere colore variabile dal giallo-bruno al marrone scuro. Nel caso di infezioni da Gram negativi, in particolare da *Pseudomonas spp* e *Proteus sp*, il materiale prelevato può avere aspetto di pus maleodorante di colore giallo chiaro e di consistenza da liquida a cremosa.

La produzione di cerume aumenta in corso di otiti, in generale in quelle associate a dermatiti su base allergica, definite appunto otiti ceruminose. In questa evenienza la quantità che si accumula nel meato può essere cospicua sino ad ostruire la visione otoscopica delle strutture, il colore è giallo carico e la consistenza caseosa.

### I cheratinociti ed altri elementi cellulari

I cheratinociti del meato acustico all'esame citologico appaiono

come cellule chiare o con colorito rosa pallido, solitamente anucleate, dall'aspetto vagamente quadrangolare quando distese, oppure mal arrotolate su se stesse. In quest'ultimo caso possono assumere colore basofilo anche intenso (Fig 6).

Alcuni cheratinociti possono contenere granuli di melanina che hanno dimensioni inferiori a 1  $\mu\text{m}$  con forma ovoidale o a piccolo bastoncino e il colore da giallo carico a bruno scuro.

Queste formazioni possono essere confuse con batteri, ma mentre i batteri, durante la colorazione, assumono il colorante, i granuli di melanina non lo trattengono. Per differenziarli quindi si può variare il comando micrometrico della messa a fuoco fino a quando non è possibile rilevare le differenze nella colorazione.

Sebbene non esistano criteri che stabiliscano quanto il numero e l'aspetto dei cheratinociti siano suggestivi di otite acuta, sub-acuta o cronica, in linea generale nelle otiti acute lo sfaldamento dell'epidermide è limitato. Pertanto, nei fatti infiammatori di recente esordio, le cellule dello strato corneo non sono in numero molto superiore a quelle degli orecchi sani.

Al contrario, se il processo infiammatorio è grave, possono essere visualizzati aggregati di cheratinociti di vario spessore con alcune cellule nucleate ed eritrociti in numero variabile.

La presenza di eritrociti è sempre indice di gravità della flogosi e della presenza di ulcere. Quando le microperdite di sangue sono croniche gli eritrociti invecchiati nel cerume, sono alterati nella forma, dimensioni e colore, ma nel caso in cui il sanguinamento sia stato provocato solo dal prelievo appariranno ben conservati.

Nelle otiti croniche si stabiliscono gradi variabili di iperplasia dell'epidermide, che sui padiglioni è clinicamente visibile con la lichenificazione.

Nel condotto uditivo l'accelerato ricambio cellulare, stimolato dal processo infiammatorio o disturbo della cheratinizzazione, provoca un eccessivo sfaldamento dello strato corneo e, per questo motivo,

il cerume prelevato sarà ricco di cheratinociti anucleati, nucleati e detriti cellulari.

E' necessario considerare che la presenza di cellule nucleate non è determinata dall'ipercheratosi paracheratotica dell'epidermide, ma piuttosto dal fatto che l'epidermide del condotto è sottile ed il prelievo può con facilità asportare anche cheratinociti al di sotto dello strato corneo. Le anomalie della forma dei cheratinociti vengono osservate in corso di pemfigo fogliaceo, quando sono presenti pustole anche nel meato acustico. I cheratinociti sfaldati dalle pustole, definiti come cellule acantolitiche, sono isolati od in piccoli "cluster", con nuclei picnotici, hanno forma rotonda e colore che varia dal rosa all'arancio. Le cellule acantolitiche sono sempre accompagnate dalla presenza di neutrofili ed eosinofili relativamente ben conservati.

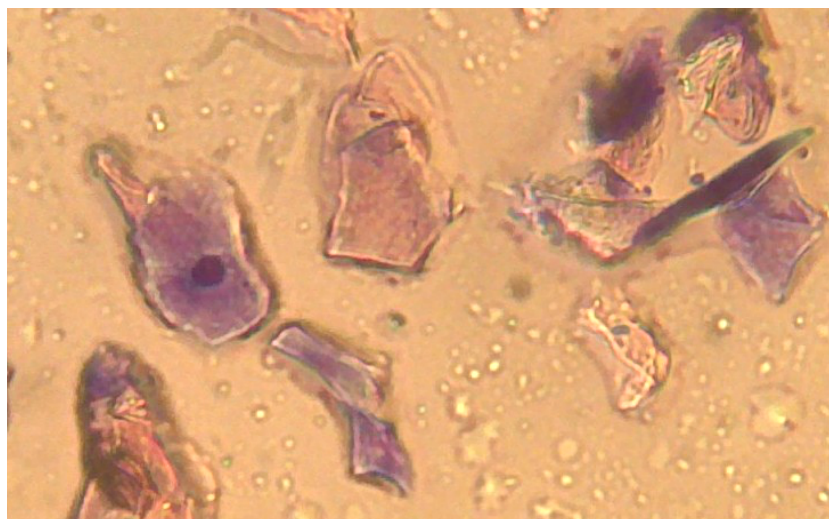
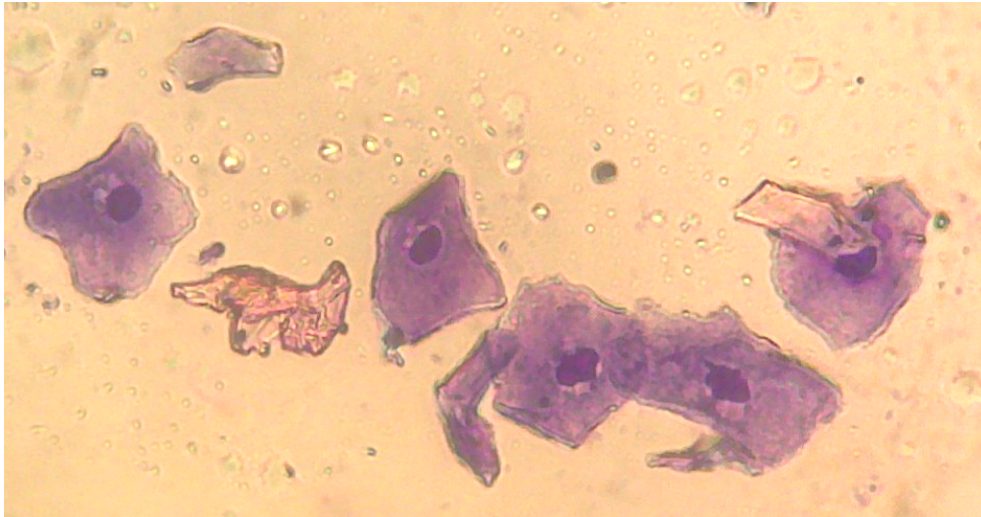


Fig 6: Cellule epiteliali nelle loro tre forme:  
nucleate, anucleate ed arrotolate su se stesse

## I batteri

Il canale esterno dell'orecchio contiene un piccolo quantitativo di batteri fisiologicamente presenti. Tra questi ritroviamo frequentemente i batteri cocciformi, *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* sp. e batteri bastoncellari, generalmente i generi *Pseudomonas* sp, *Proteus* spp ed *E. coli*. Più raramente possono essere osservati batteri filamentosi o a spirillo, in particolare nelle otiti croniche purulente. I batteri possono essere facilmente differenziati da altre strutture simili perché, assorbendo bene i coloranti, assumono colore basofilo intenso, hanno superficie liscia e dimensioni sempre identiche (Fig 7-8-9). Nel valutare la presenza di batteri, è importante la distinzione tra sovraccrescita batterica e vera infezione, talvolta difficile da stabilire nei casi limite. L'importanza pratica consiste nel fatto che nella prima evenienza non sono necessari costosi antibiogrammi o prolungate terapie antibiotiche sistemiche, può essere sufficiente la sola terapia locale. Nell'infezione batterica invece, l'uso di un antibiotico per via sistemica, in aggiunta o meno alla terapia locale, è strettamente necessario per risolvere l'infezione (Scott et al, 2000 e White, 1999).

Il numero normale di batteri presenti nel cerume prelevato da orecchi sani è stato investigato da pochi autori. Le indagini più accurate a questo proposito indicano che ad ingrandimento di 40X il numero di batteri in un orecchio sano varia da 0 a 5, mentre una popolazione di 25 e oltre batteri indica una popolazione batterica anormale (Ginel et al, 2002). L'esame citologico non è affidabile per determinare la specie di batterio presente. La differenza tra *Staphylococcus* spp o *Streptococcus* spp per esempio non può essere effettuata con il solo preparato citologico; è necessario un esame colturale batterico per identificare con accuratezza genere e specie batterica. Tale esame però non dovrebbe mai essere usato come unico approccio diagnostico; i risultati che offre, infatti, devono essere sempre accompagnati dall'esame citologico.



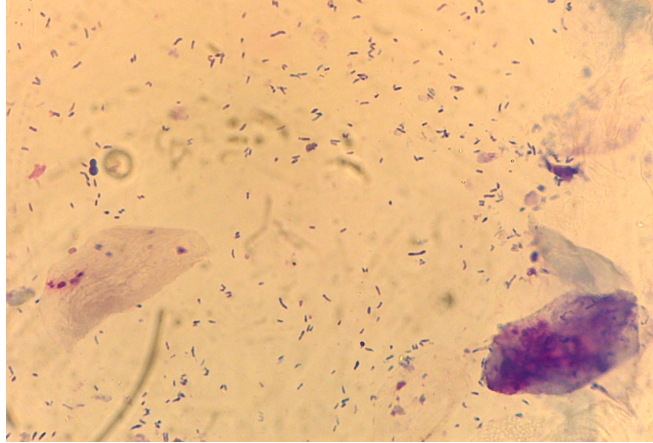


Fig 7: Batteri coccoidi e bastoncellari

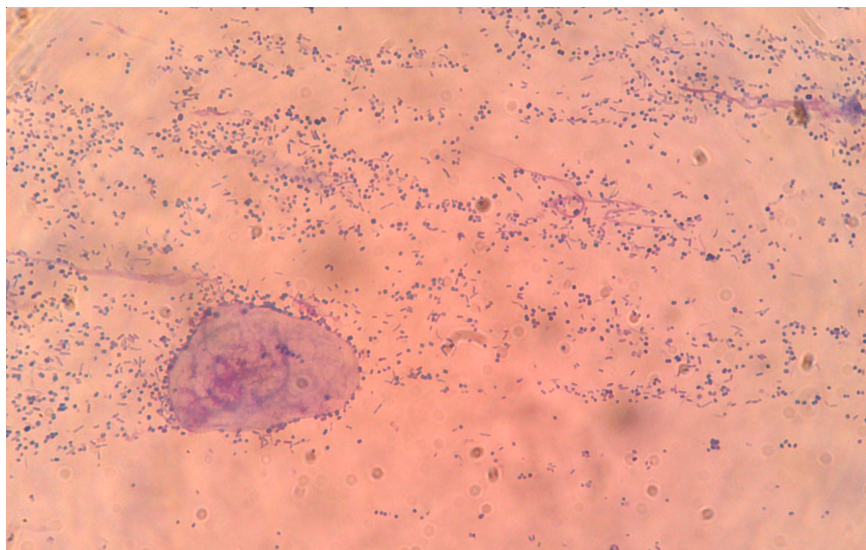


Fig 8: Batteri: popolazione prevalentemente coccoide

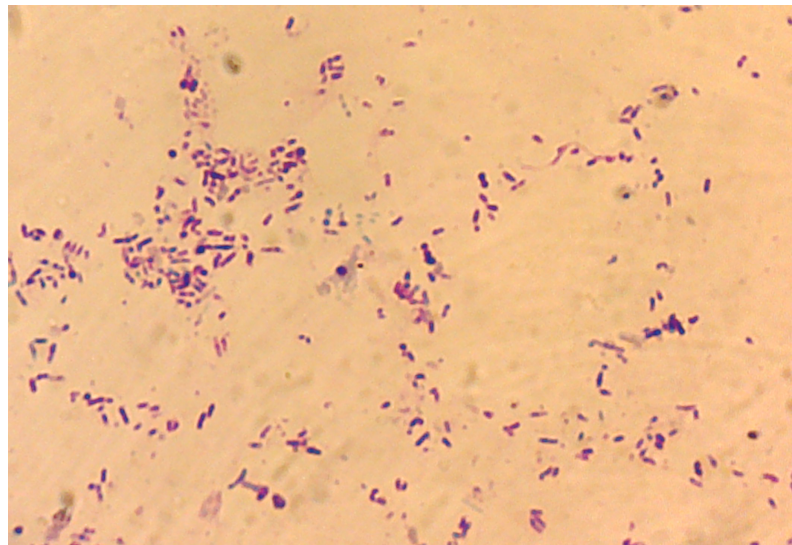


Fig 9: *Batteri coccoidi e bastoncellari*



### Leucociti

Oltre allo studio dei batteri e dei lieviti presenti, il campione in esame deve essere accuratamente osservato per la presenza o meno di leucociti. Mentre batteri e lieviti sono normali reperti in un preparato citologico, i leucociti non dovrebbero essere mai presenti in un paziente sano (Ginel et al, 2002). Neutrofili, macrofagi e altre cellule infiammatorie raggiungono il canale auricolare solo nel caso in cui sia presente un'infezione essudativa, un'ulcera o una otite media che ha coinvolto anche il canale esterno. La presenza di leucociti in un preparato citologico indica quindi la presenza di una grave flogosi (Angus, 2004). Per aiutare nella differenziazione tra sovracrescita e infezione batterica, è utile ricordare che i leucociti non dovrebbero essere mai presenti in condizioni normali. Qualsiasi batterio trovato in presenza di leucociti dovrebbe quindi essere considerato un referto anormale (Harvey et al, 2001 - Scott et al, 2000 - Chickering, 2004 - Cole, 2002). La presenza di neutrofili e macrofagi con batteri fagocitati indica che il sistema immunitario sta rispondendo all'infezione profonda dell'epidermide con un processo piogranulomatoso. In questo caso potrebbe essere indicato l'uso di un antibiotico per via sistemica.

In corso di otite il numero di batteri sul preparato è sempre elevato anche quando il soggetto è affetto solo da otite ceruminosa, ma il processo infiammatorio è tanto più serio quanto più pronunciata è la contemporanea presenza di cellule infiammatorie e batteri fagocitati intracellulari. Le otiti acute e sub-acute con complicazioni batteriche sono rare e l'esame citologico può evidenziare la presenza di una modesta popolazione di neutrofili relativamente ben conservati con batteri fagocitati e dispersi sullo sfondo del vetrino.

Al contrario, le otiti purulente gravi, generalmente sono a carattere cronico e l'esame citologico permette di osservare un gran numero di neutrofili ipersegmentati, picnotici e materiale basofilo di origine

nucleare distribuito sullo sfondo del vetrino sotto forma di sottili strisce riunite in fasci di aspetto bizzarro. Nelle otiti croniche gravi inoltre possono essere rilevate altre cellule infiammatorie, quali macrofagi e più raramente eosinofili e linfociti. I batteri in questo caso sono numerosi e deve essere prestata molta attenzione a quelli fagocitati, gli intracellulari. Se sono presenti batteri bastoncellari, ed in caso di otiti recidivanti, è sempre necessario eseguire l'esame batteriologico e l'antibiogramma.

Come accennato precedentemente, un esame colturale e l'antibiogramma sono da considerare incompleti se non accompagnati da un esame citologico; al laboratorio quindi devono essere segnalati i rilievi dell'esame citologico per ottimizzare l'esame colturale e scegliere gli antibiotici giusti da testare.

L'esame citologico, attraverso il rilievo del tipo e del numero di batteri, rimane comunque l'unica indagine veramente utile per monitorare l'andamento della malattia nel tempo. Inoltre i leucociti sono un ottimo parametro per monitorare l'andamento dell'infezione e la risposta alla terapia.

### La malassezia

I lieviti del genere *Malassezia spp* sono parte della normale microflora dell'orecchio esterno: la *Malassezia pachydermatis* è considerato il lievito commensale primario dell'orecchio del cane ed è presente nel 15-49% dei canali auricolari sani e fino al 83% nei canili affetti da otite esterna (Guillot, 1999 e Scott et al, 2000).

Nei preparati citologici la *Malassezia pachydermatis* è facilmente riconoscibile sia perché di colore basofilo sia per la sua caratteristica forma globosa che ricorda una "nocciolina", una "pera", un "birillo" o un "pupazzo di neve" (Fig 10). Inoltre le sue dimensioni che variano da 2.0 x 4.0 µm a 6.0 x 7.0 µm (Guillot, 1999), la differenziano facilmente dai batteri che sono molto più piccoli.

Nonostante sia un normale commensale del canale auricolare, la malassezia può diventare un patogeno opportunistico.

In corso di otite infatti, con il variare del microambiente, queste possono agire da patogeni opportunisti. In particolare, in corso di dermatite atopica, sono stati isolati anche altri generi di malassezia come la *M. furfur* (Fig 11) e la *M. globosa*.

Sebbene esistano differenze fenotipiche e biochimiche tra le varie specie, dal punto di vista strettamente clinico la risposta dell'ospite sembra la stessa e non è possibile discriminare le varie specie con la sola citologia.

Alcuni autori hanno tentato di determinare quale sia il numero normale di *Malassezia spp* per campo ottico a 40X, allo scopo di decidere se intraprendere o meno la terapia antimicotica.

Uno studio considerava che la presenza di 2-5 malassezie per campo visivo 40X, fosse normale, mentre 5 o più organismi fossero un reperto anormale (Ginel et al,2002) .

Nel corso degli anni i risultati di diversi autori indicano cifre conflittuali con variazioni da 5 a 25 elementi per campo ottico.

Queste differenze portano a considerare criticamente questi dati.

Tali valori dovrebbero essere valutati nel loro complesso insieme agli altri risultati della citologia e alla luce dei sintomi clinici riscontrati.

La sovracrescita di malassezie può essere associata o no ad un processo infiammatorio, ma in corso di sola malasseziosi la presenza di cellule infiammatorie è scarsa e non è paragonabile a quella delle flogosi osservabili nelle infezioni sostenute da batteri.

Salvo segnalazioni aneddotiche, la *Malassezia spp* non è fagocitata dai neutrofili e pertanto è rilevabile libera sullo sfondo del preparato o adesa ai cheratinociti.

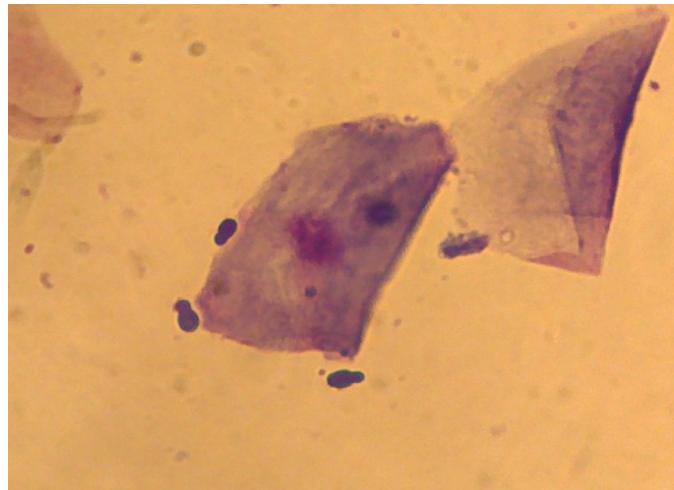
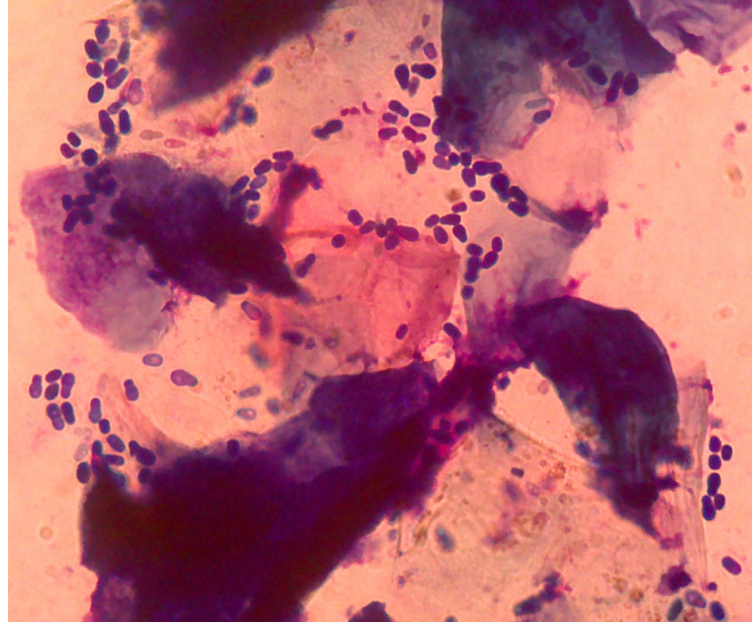


Fig 10: Cellule epiteliali e *Malassezia sp*

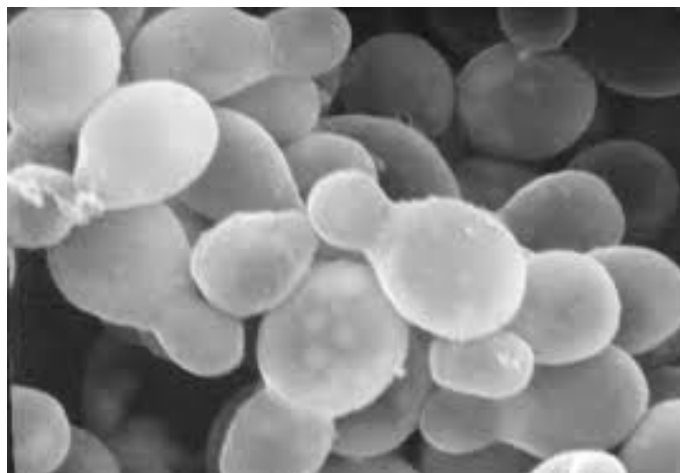


Fig 11: *Malassezia furfur* al microscopio elettronico a scansione.

## Parassiti

Per la visualizzazione dei parassiti la tecnica classica prevede l'allestimento di un preparato dove sul vetrino portaoggetti viene posto il campione prelevato da una qualsiasi porzione del canale auricolare ed una goccia di olio minerale per stemperare il cerume. Non è necessaria nessuna fissazione o colorazione, è sufficiente un vetrino copri-oggetti. L'ingrandimento ottimale per la visualizzazione di parassiti è 4x o 10x.

Il più comune parassita associato ad otite esterna del cane e gatto è *Otodectes cynotis* (Scott et al, 2000 - Chickering, 2004 - August, 1988 - Harvey, 2001). Questi acari sono responsabili del 50% di tutti i casi di otite esterna dei gatti, e del 5-10% di tutti i casi di otite esterna dei cani (Scott et al, 2000).

E' provvisto di quattro paia d'arti rudimentali, non più lunghe del corpo. È di grosse dimensioni: 250 X 320 µm il maschio e 280 X 450 µm la femmina. Tra i detriti di cheratina è facile riscontrare anche uova che hanno una dimensione di 100 X 210 µm (Loshe et al, 2002). Il parassita si nutre delle secrezioni prodotte durante le microlesioni prodotte sull'epitelio del canale auricolare. Non è specie specifico ed è altamente contagioso tra gli animali in quanto può resistere nell'ambiente esterno anche diverse settimane.

La sintomatologia clinica e la gravità della flogosi sono in funzione diretta sia del numero dei parassiti sia della risposta d'ipersensibilità dell'ospite stesso ( Weisbroth,1974 - Powell, 1990).

In soggetti con ipersensibilità agli antigeni degli acari, anche la presenza di soli 3 parassiti, può causare il perpetuarsi dell'infezione, del prurito e del dolore, ed essere la causa di infezioni secondarie (Scott et al, 2000 - Harvey,2001).

In uno studio dove la prevalenza di *O.cynotis* era del 29.1%, è stato riscontrato che solo la metà dei soggetti che avevano un riscontro citologico, manifestavano una sintomatologia clinica (Frost, 1961).

Questo a dimostrazione che infezioni sub-cliniche sono frequenti.

Quando l'infestazione è sostenuta da numerosi parassiti, la loro visualizzazione, non è difficoltosa; l'esame microscopico a 4-10x di materiale prelevato dal canale aggiunto ad olio minerale, è solitamente sufficiente per evidenziare l'acaro.

Al contrario, ed in particolare nel cane che ha manifestato un'ipersensibilità, la diagnosi potrebbe essere più difficoltosa.

La contemporanea presenza di un processo infiammatorio essudativo, o le secondarie infezioni batteriche, potrebbe rendere difficile l'identificazione dei parassiti. In questi casi è facile che la causa primaria dell'otite non sia rilevata.

Per questo motivo in corso di otite, l'otocariosi deve sempre essere considerata tra le cause primarie ed anche in assenza di un riscontro oggettivo al microscopio è consigliabile comunque intraprendere un tentativo terapeutico specifico.

Altri acari che possono essere ritrovati nei preparati citologici sono *Demodex spp*, *Sarcoptes scabiei*, *Notoedres cati*, *Eutrombicula alfreddugesi* e *Neotrombicula autumnalis*.

Il *Demodex canis* nel cane ed il *Demodex cati* (e *D. wairst cati*) nel gatto, sono commensali permanenti dell'apparato pilo-sebaceo; viene trasmesso per contatto diretto dalla madre ai cuccioli e compie il suo ciclo biologico interamente sull'ospite.

Il *Demodex canis* è lungo circa 150-250 micron, ha 4 paia di arti atrofizzati raggruppati nel podosoma, la parte anteriore del corpo, mentre la regione posteriore, l'opistosoma, è più lunga e rappresenta i 2/3 del corpo dell'acaro.

La demodicosi è la conseguenza clinica dell'incapacità dell'ospite di controllare la proliferazione di tali parassiti.

La demodicosi canina vede tra le cause predisponenti la predisposizione genetica, l'età, i difetti immunologici congeniti o acquisiti, lo stress, la denutrizione, l'estro, la gravidanza, la lattazione, altre malattie, i trattamenti immunosoppressivi etc, mentre la demodicosi felina è spesso associata a malattie.

*Demodex spp* possono essere rinvenuti anche nel cerume ed essere responsabili o meno di otiti. L'otodemodicosi viene generalmente osservata in corso di demodicosi generalizzata, ma occasionalmente può essere la sola localizzazione della parassitosi, in particolare nella specie felina.

#### Cellule neoplastiche

In presenza di neoformazioni nel canale auricolare esterno, il prelievo tramite tampone dal canale auricolare non sempre permette di ottenere un preparato ricco di cellule neoplastiche. I processi infiammatori che accompagnano queste forme mascherano frequentemente il quadro citologico.

Per questo motivo, quando il tumore è raggiungibile, per ottenere materiale rappresentativo della lesione è necessario adottare il prelievo tramite agoaspirazione.

Nell'adenoma/adenocarcinoma delle ghiandole ceruminose, la forma neoplastica più comune del canale auricolare del cane, si possono osservare rari "cluster" di cellule epiteliali, a volte disposte ancora ad acino e con vari gradi di differenziazione. Le cellule sono di medie-grandi dimensioni, con nucleo eccentrico, tondo/ovale con cromatina sparsa e rapporto nucleo/citoplasma moderato. Il citoplasma può contenere vacuolizzazioni di buone dimensioni.

Nel carcinoma squamoso le cellule neoplastiche sono generalmente isolate, di forma tondeggiante, con citoplasma ipercromatico ricco in vacuoli e nucleo voluminoso con nucleoli ben visibili.

#### 4.5- Diagnostica per immagini

La diagnostica per immagini permette uno studio approfondito dell'orecchio. La tomografia computerizzata è il mezzo ottimale per la valutazione delle lesioni del tessuto osseo, mentre la risonanza magnetica per i tessuti molli.

Nella pratica quotidiana il loro uso è limitato se non nei casi estremi; la radiografia invece, anche se non permette uno studio altrettanto dettagliato, è la procedura d'elezione nel primo approccio diagnostico per immagini.

Il suo uso nella pratica clinica è importante soprattutto nella diagnosi di patologie dell'orecchio medio ed esterno, in particolar modo quando la chirurgia risulta essere l'unica terapia rimasta (Harvey, 2001).

In corso di gravi otiti croniche infatti con una radiografia dorso ventrale è possibile visualizzare le calcificazioni delle cartilagini del canale auricolare (Harvey, 2001).

La radiografia dorso ventrale permette inoltre di studiare il lume del canale auricolare esterno e di valutare lo stato della membrana timpanica. Per valutare l'integrità della membrana timpanica, è necessario l'uso del mezzo di contrasto. In questo caso il canale auricolare viene riempito con il mezzo di contrasto e con un lieve massaggio si assicura la corretta penetrazione del liquido; eventualmente è possibile anche usare un tappo di cotone per evitarne la fuoriuscita durante la procedura radiografica (Harvey, 2001).

Se il mezzo di contrasto penetra nell'orecchio medio sarà visualizzata l'opacizzazione della bulla timpanica e sarà possibile diagnosticare una rottura della membrana timpanica. Al contrario l'assenza di liquido di contrasto nella bulla timpanica non garantisce l'assoluta integrità della membrana timpanica (Harvey, 2001).



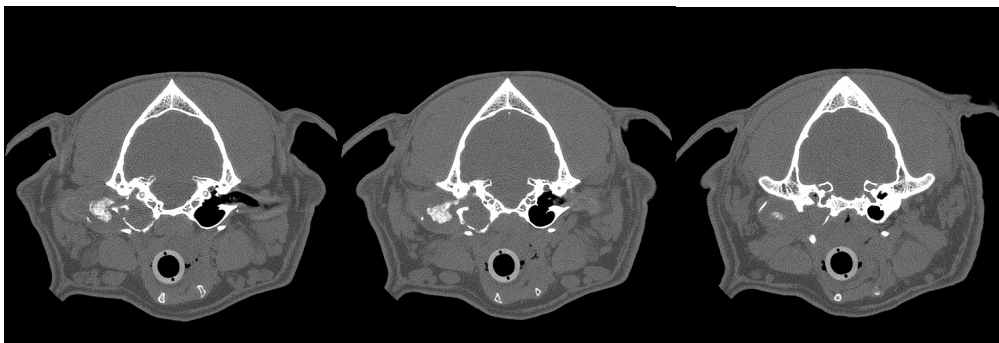


Fig 12: Otite media monolaterale dx:  
studio TC con finestra tessuti duri. Sono evidenti la proliferazione  
cartilaginea e dell'epidermide che occludono completamente il ca-  
nale auricolare e la mineralizzazione dell'orecchio medio.

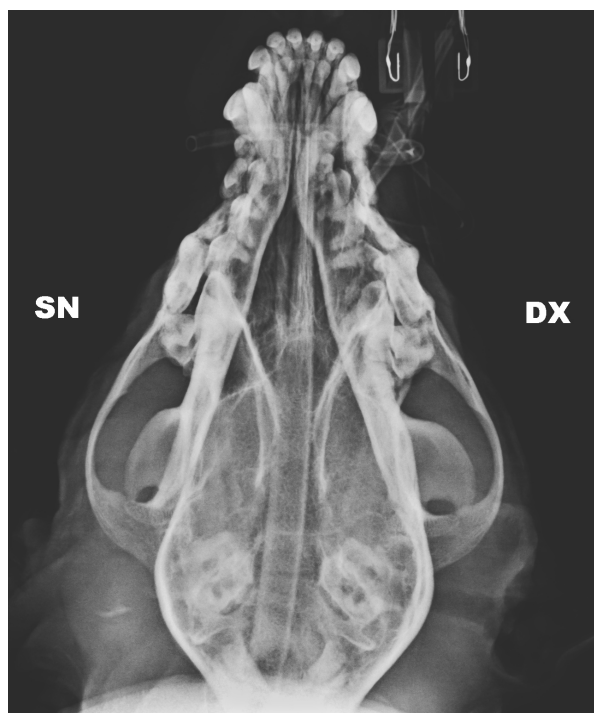


Fig 12: Proiezione dorso ventrale: occlusione condotto sx e calcificazione parziale  
(cortesemente concesse dalla Prof. S. Citi)

## Capitolo 5

### **Manifestazioni cliniche e Modificazioni fisiopatologiche in corso di otite**

Le manifestazioni cliniche variano funzione delle cause, dei fattori e dell'espressione individuale (August, 1988 – McKeever, 1995).

In generale possiamo definire che:

- l'otite esterna acuta unilaterale nel cane è una conseguenza tipica alla penetrazione di un corpo estraneo;
- l'otite esterna bilaterale cronica invece è indicativa di casi di ipersensibilità ed esita in alterazioni quantitative e qualitative della microflora, dove inizialmente aumentano il numero dei batteri Gram positivi ed in seguito dei Gram negativi (McCarty et al, 1982);
- l'ulcerazione del canale uditivo suggerisce l'infezione da batteri Gram negativi.

L'otite esterna è spesso bilaterale e tra i principali segni clinici abbiamo scuotimento della testa, prurito, dolore, *head tilt*, cattivo odore, otorrea ed escoriazioni autindotte del padiglione e della base degli orecchi. Talvolta l'orecchio più colpito appare leggermente più basso rispetto all'altro, in particolare modo in caso di otiti croniche con coinvolgimento nervoso. Il dolore invece non sempre è ben correlabile con l'estensione della lesione, ma può essere provocato facilmente con la palpazione dei padiglioni e dei condotti.

Un esame dell'aspetto interno della pinna nelle prime fasi dell'infiammazione può rivelare eritema, edema e la natura fragile della pelle dei padiglioni che predispone ad escoriazioni ed ulcere; queste si possono a loro volta infettare producendo un essudato purulento o emorragico.

L'infiammazione causata da un'otite esterna ha come risultato finale un edema ed un eritema del canale auricolare (Logas, 1994).

Clinicamente l'edema si manifesta con la stenosi del canale auricolare, mentre dal punto di vista istopatologico, si nota una

iperplasia dell'epidermide (Chaudhary et al.2002).

Anche le ghiandole sebacee in corso d'inflammatione aumentano di volume e modificano quantità e qualità del cerume (Fernando 1967). Col progredire della patologia i tessuti sotto cutanei aumentano di spessore, portando al progressivo chiudersi del canale auricolare (Fraser, 1961). Le ghiandole sebacee si allungano e diventano prive di qualsiasi struttura cellulare e perdendo la loro attività secretoria. Le ghiandole sudoripare apocrine invece aumentano di volume ed i dotti secretori talvolta vengono occlusi da cheratina e secrezioni. In alcuni casi quindi anche le ghiandole apocrine vanno incontro ad atrofia e degenerazione (Fernando, 1967 - Chaudhary et al, 2002 – Roth, 1988). Con il tempo, il perpetuarsi dell'inflammatione porta alla calcificazione e all'ossificazione delle cartilagini auricolari. Uno studio recente ha riportato che i cambiamenti che avvengono durante un'otite cronica, possono essere in relazione con la razza; l'iperplasia e la dilatazione delle ghiandole apocrine, si osserva in più del 70% dei Cocker Spaniel mentre in altre razze esaminate si manifesta con una percentuale del 31% (Angus, 2002). Una volta che si instaurano tali modificazioni strutturali si può parlare di ESO, "end stage otitis", dove l'uso di farmaci topici o sistemici non producono più alcun risultato; in tal caso è necessario ricorrere ad un intervento chirurgico.



Fig 13: Eritema del canale auricolare



Fig 14: Edema ed eritema del canale auricolare



Fig 15: Presenza di sangue per autotrauma





Fig 15: Otite ceruminosa: epidermide moderatamente eritematosa, lichenificazione di trago e antelice



Fig 16: Parassiti: *Ixodes ricinus*



Fig 17: Demodicosi: Lichenificazione e iperpigmentazione del padiglione



Fig 18:



Fig 19: Otite esterna purulenta con ulcerazioni del padiglione



Fig 20: Iperplasia dell'epidermide





Fig 21: Otite purulenta: imbrattamento dei peli con essudato



Fig 22: Cellulite giovanile: papule e pustole coalescenti



## Capitolo 6

### **Malattie del padiglione auricolare**

Molte malattie dermatologiche coinvolgono anche il padiglione auricolare. Le lesioni osservabili sono principalmente l'alopecia, le papule, le pustole, i noduli, le placche, le scaglie, le croste, le erosioni e le ulcere. Nella gran parte delle dermatopatie multifocali o generalizzate anche quando è coinvolto il padiglione auricolare, il prelievo di materiale per l'esame citologico viene eseguito su lesioni site altrove per ragioni pratiche. Per tale motivo in questo capitolo saranno trattate solo le malattie dove il padiglione è la sede d'elezione delle lesioni dermatologiche o dove le lesioni osservabili sono di grande utilità per il prelievo di materiale da destinare all'esame citologico.

#### Rogna Notoedrica e Sarcoptica

I due parassiti sono molto simili e variano in dimensioni da 200 a 400  $\mu\text{m}$ , ma le differenze più evidenti sono la presenza di striature sul tegumento e l'ano posto dorsalmente nel *N. cati*.

La rogna notoedrica è una malattia parassitaria sostenuta dal *No-toedres cati*, conosciuta anche come scabbia felina. Può essere contagiosa anche per il cane ed occasionalmente per l'uomo. Questa parassitosi è responsabile di una dermatite pruriginosa dove, oltre ai segni d'autotrauma, è possibile osservare papule, spesse croste e lichenificazione marcata.

Le aree colpite sono la parte convessa del padiglione, la testa ed il collo. L'esame microscopico diretto a 4-10X deve essere eseguito su raschiati superficiali e permette con facilità di identificare molti parassiti adulti, immaturi e uova.

La rogna sarcoptica è sostenuta dal *Sarcoptes scabiei var. canis* e colpisce il cane e molte altre specie, uomo compreso.

Le aree d'elezione della parassitosi sono inizialmente il padiglione auricolare ed i gomiti. La dermatite è pruriginosa e caratterizzata da alopecia, eritema intenso, segni di autotrauma, dalla presenza di papule crostose e abbondanti scaglie in particolare sui margini del padiglione.

Il raschiato superficiale può permettere di osservare nel preparato parassiti adulti e loro uova in una percentuale di casi non superiore al 20-30%.

### Trombiculosi

La trombiculosi è una malattia parassitaria sostenuta dalle larve esapodi della *Neotrombicula autumnalis*. Questa parassitosi è causata da una dermatite pruriginosa osservata nel periodo autunnale in soggetti che frequentano aree rurali e boschive. Le lesioni sono rappresentate da papule, croste di colore arancio, scaglie ed escoriazioni, localizzate ai padiglioni auricolari, testa e talvolta anche arti, piedi ed addome. L'esame microscopico diretto delle croste disciolte in olio minerale o poste su nastro adesivo permette di osservare larve di colore arancio molto attive, ovoidali, di grosse dimensioni (500  $\mu$ m) e provviste di tre paia di lunghi arti posizionati nella parte anteriore del corpo.

### Pemfigo fogliaceo e Lupus eritematoso

Il pemfigo è un complesso di malattie autoimmunitarie, caratterizzate dalla presenza di vescicole e pustole che si creano a causa della produzione di autoanticorpi diretti nei confronti delle strutture di connessione fra i cheratinociti.

Ne consegue quindi un'alterata coesione ed un distacco tra le cellule dell'epidermide che diventano rotondeggianti e libere all'interno della vescicola/pustola; vengono chiamate cellule acantolitiche (Spaterna, 2008).

A seconda del livello dell'epidermide dove avviene il distacco si distinguono diverse forme di pemfigo: fogliaceo, eritematoso, volgare, paraneoplastico e malattia di Darier (Spaterna, 2008).

*- Pemfigo fogliaceo*

Il pemfigo fogliaceo è la forma più frequentemente riscontrata.

E' caratterizzato dalla comparsa saltuaria di pustole di varie dimensioni che si rompono rapidamente dando luogo a croste color giallo miele. Possono presentarsi anche in associazione con alopecia collaretti epidermici, erosioni e depigmentazioni.

Il prurito può essere presente sin dall'esordio della malattia, causando lesioni da autotrauma e causando una predisposizione verso infezioni secondarie. Le lesioni tendono a localizzarsi in maniera simmetrica a livello del muso, dei cuscinetti plantari e del padiglioni auricolari (Spaterna, 2008). In corso di pemfigo foliaceo il padiglione auricolare è una delle aree inizialmente più coinvolta dall'eruzione delle pustole. Queste possono essere osservate su entrambe le facce del padiglione, ma su quella concava, dove i peli sono scarsi o assenti, è più facile visualizzarle anche quando sono di piccole dimensioni. Il prelievo di materiale da queste lesioni può essere eseguito rompendo con un ago l'epidermide e appoggiando il vetrino portaoggetto sulla goccia di pus che fuoriesce. Il prelievo dai padiglioni permette di "risparmiare" le pustole site in altre aree del corpo da sottoporre a prelievo biotico per l'esame istopatologico.

*- Lupus eritematoso*

Con lupus eritematoso si identifica un gruppo di malattie autoimmunitarie caratterizzate dalla produzione di autoanticorpi diretti a diversi organi, tra i quali anche la cute. Si distinguono il lupus eritematoso cutaneo, che ha solo manifestazioni cutanee, e quello sistemico, che coinvolge invece organi e apparati diversi. (Spaterna, 2008).

La reazione immunitaria verso i cheratinociti causa il richiamo, da parte del complemento e di sostanze liberate dai cheratinociti danneggiati, di un infiltrato cellulare linfocitario e granulocitario. L'effetto citotossico dei linfociti e quello litico dei granulociti ha come risultante il danno del cheratinocita. La conseguente lisi del cheratinocita espone frammenti nucleari verso i quali si formano ulteriori auto anticorpi (questi assumono importanza ai fini diagnostici). Le lesioni sono depigmentazione, eritema e scaglie, e talvolta possono evolvere in alopecia, croste, erosioni ed ulcerazioni. Queste lesioni si localizzano principalmente sul tartufo, sul dorso del naso, labbra, regioni perioculari, genitali esterni, zampe e padiglioni auricolari (Spaterna, 2008).

### Vasculiti

Le vasculiti sono l'infiammazione della parete dei vasi sanguigni e del connettivo perivascolare. Nel cani sono solitamente interessati i vasi di piccolo calibro, in particolar modo quelli che irrorano la cute nelle sue porzioni più distali, come per esempio zampe, coda e margine apicale del padiglione auricolare.

Nel cane è stata segnalata la "vasculite idiopatica del margine auricolare". Origine probabilmente da un meccanismo di ipersensibilità di tipo III ed è stata riscontrata prevalentemente nella razza bassotto.

Inizialmente si manifesta con aree alopeciche sul margine dei padiglioni auricolari, in seguito la cute si ispessisce, necrotizza e dà origine a ulcere ricoperte talvolta da croste (Spaterna, 2008).

### Carcinoma squamocellulare

Il carcinoma squamocellulare colpisce frequentemente il padiglione auricolare, il piano nasale e le palpebre in particolare nei gatti bianchi.

I margini dei padiglioni sono le aree afflitte per prime e le lesioni iniziali sono rappresentate da eritema, piccole aree erose, croste aderenti e ripiegamento dei margini del padiglione. Con il tempo, il tumore prende sempre più l'aspetto di una vasta proliferazione cauliforme ulcerata e ricoperta da una crosta.

Il prelievo può essere eseguito per agoaspirazione con ago sottile dallo spessore dell'epidermide al di sotto dell'ulcera. Può essere eseguito anche per apposizione o per raschiamento della porzione più superficiale dei margini della lesione erosa/ulcerata.

Le difficoltà tecniche del prelievo purtroppo condizionano spesso la qualità del preparato, ma nel caso il processo neoplastico sia in stato relativamente avanzato, è possibile rilevare la presenza di cheratinociti pressoché normali e di altri atipici di forma rotondeggiante, con ipercromasia del citoplasma, numerose vacuolizzazioni e nucleo voluminoso con nucleoli ben visibili.

### Istiocitoma

E' un tumore benigno e solitario del cane, occasionalmente diagnosticato anche nel gatto, a rapida crescita e a spontanea risoluzione. Colpisce in genere i giovani soggetti localizzandosi su padiglione auricolare, testa o arti. La neoformazione difficilmente supera i tre centimetri di diametro, è sferica, solida ed eritematosa. Con il passare del tempo, l'istiocitoma tende ad ulcerare, diventando piatto sino a scomparire in una macula depigmentata. L'esame citologico permette di osservare una popolazione pleomorfa di cellule discrete, tonde od ovali con citoplasma basofilo, caratterizzata da anisocariosi evidente. Il nucleo ha cromatina finemente sparsa e nucleoli piccoli e a volte mal distinguibili. Lo stadio di regressione è associato alla presenza di linfociti attivati e neutrofili.



Fig 23: Cheratosi lichenoida



Fig 24: Istiocitoma



Fig 25: Vasculite con necrosi trombovascolare del padiglione





Fig 26: Lichenificazione e iperpigmentazione del padiglione

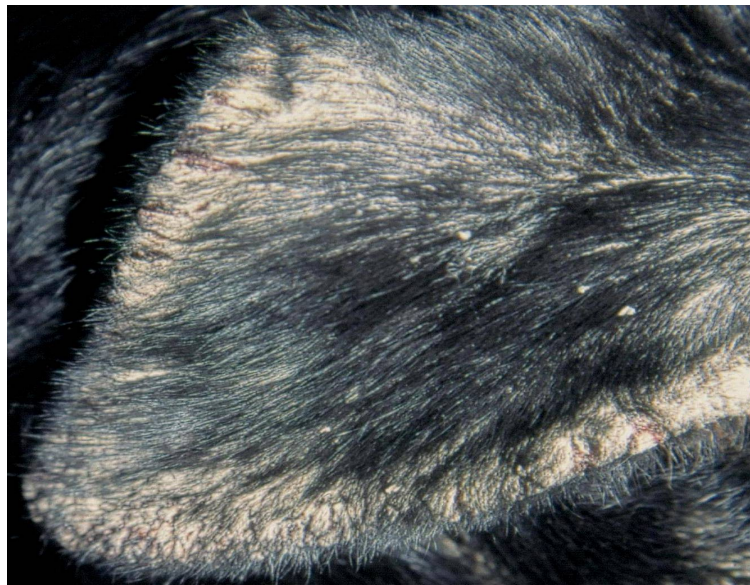


Fig 27- 28: Scabbia con alopecia e croste adese al padiglione.

## **Trattamento delle otiti**

### 7.1- Terapia medica

Un corretto approccio terapeutico all'otite esterna può essere particolarmente complesso in quanto, non solo è necessario tener conto delle cause primarie e secondarie, ma anche dei fattori predisponenti e perpetuanti.

Non esiste quindi un protocollo terapeutico standard. La scelta del corretto protocollo sarà in base alle caratteristiche del processo otologico, dei risultati ottenuti con l'esame microscopico e della sua evoluzione nel tempo (Spaterna, 2008).

Per prevenire recidive ed insuccessi terapeutici, prima di iniziare qualsiasi procedura dovranno essere individuati, e risolti quando possibile, i fattori predisponenti o le cause primarie. È importante inoltre effettuare un monitoraggio continuo e riuscire ad aver una buona collaborazione da parte del proprietario.

La terapia delle otiti comprende:

- 1) la pulizia del canale auricolare
- 2) la somministrazione endoauricolare di farmaci
- 3) la terapia sistemica.

#### 1) Pulizia del canale auricolare

La pulizia del canale prevede la somministrazione endoauricolare di generose quantità di vari prodotti otologici.

In commercio esistono diversi prodotti destinati alla pulizia del canale auricolare contenenti detergenti, agenti ceruminolitici, antisetici e surfattanti.

Tra gli agenti ceruminolitici esistono quelli ad azione più potente, come per esempio il Dioctil sodio solfosuccinato (DSS) e quelli ad azione più blanda, come il carbammato di perossido, indicato in caso di essudato purulento, il glicole propilenico e lo squalene.



Lo squalene in particolare è una molecola naturale, precursore del colesterolo e degli ormoni steroidei, considerato come il prodotto ceruminolitico più sicuro in caso di ototossicità.

Prodotti detergenti più blandi invece hanno la capacità di pulire il canale dall'eccesso di cerume e dalle cellule di desquamazione, in associazione ad una lieve azione antisettica.

Questi prodotti sono consigliati nella pulizia di un canale auricolare lievemente sporco, ma non sono consigliati in caso di otite esterna, in quanto non sufficientemente efficaci.

Prodotti astringenti invece sono utilizzati per asciugare il canale auricolare, prevenire la macerazione e per controllare la popolazione microbica presente nel canale.

I prodotti più comuni sono quelli a base di alcool o acidi che hanno anche qualche proprietà antisettica. Le soluzioni sono in genere combinazioni di clorexidina, idrossido d'alluminio, propilene glicolico, paraclorometaxilenolo (PCMX) con uno o più acidi, acido acetico, salicilico, borico. Talune soluzioni invece contengono Tris-EDTA; questa soluzione se somministrata circa 10-15 minuti prima dell'antibatterico ha la capacità di potenziare l'attività antibatterica, aumentando la permeabilità di membrana dei batteri ed alterandone la stabilità ribosomiale.

## 2) Somministrazione topica dei farmaci

In commercio esistono diversi prodotti otologici contenenti più principi attivi come glucocorticoidi, antibiotici, antiparassitari e antifungini. Prodotti topici contenenti glucocorticoidi hanno diversi effetti: antipruriginoso, antinfiammatorio, riduzione dell'essudato e dell'edema, atrofia delle ghiandole sebacee e limitano inoltre la proliferazione dell'epidermide e della base cartilaginea.

Ci sono diversi tipi di glucocorticoidi presenti sul mercato.

Nella fase iniziale del trattamento sarà prescritto un potente glucocorticoide, come desametasone, betametasone, triamcinolone,

ma una volta controllata l'infiammazione acuta, per l'uso prolungato sono consigliati principi attivi meno potenti con meno effetti collaterali. Per le terapie a lungo termine sono consigliati prodotti topici contenenti come esempio idrocortisone (0,5-1%), desametasone a basse concentrazioni (0,1%).

Prodotti topici contenuti antibatterici sono indicati invece nel caso in cui sia presente una sovraccrescita o un'infezione batterica.

La maggior parte dei prodotti in commercio contengono la combinazione di più principi attivi. Gli antibiotici locali vengono combinati spesso con gli antimicotici.

Gli antibiotici maggiormente usati nei prodotti topici sono gli aminoglicosidi e i fluorochinoloni. In particolare la neomicina, l'associazione neomicina-polymixina B, la gentamicina e la marbofloxacina sono i principi attivi più comuni.

L'ototossicità è il fenomeno che si sviluppa quando il trattamento medico va a danneggiare la funzionalità dell'orecchio interno.

È importante quindi ricordare che se l'integrità timpanica non è assicurata, alcuni antibiotici, come gli aminoglicosidi (gentamicina e neomicina) e le polimixine, possono indurre ototossicità a carico delle porzioni medie dell'orecchio (Spaterna, 2008).

Nel caso di complicazioni da *Malassezia spp*, *Candida* e dermatofiti, vengono somministrati farmaci antimicotici. I principali principi attivi sono il miconazolo, ketoconazolo, clotrimazolo. Tra le micosi, la *Malassezia Pachydermatis* è il patogeno più comune ed è una frequente causa secondaria di otiti esterne. È solitamente associate alla sovraccrescita di batteri e raramente il trattamento farmacologico è diretto solo verso la micosi. I prodotti usati sono, infatti, l'associazione di antibatterici e anti micotici. In caso di parassitosi invece i prodotti topici sono a base di ivermectina, amitraz, tiabendazolo.

### 3) Somministrazione sistemica dei farmaci

Le indicazioni per il trattamento sistemico dell'otite esterna sono in caso di infezione parassitaria generalizzata, in caso infezione concomitante a otite media, per contrastare le modificazioni anatomiche del canale e in caso di inefficacia del trattamento topico. I glucocorticoidi sono particolarmente indicati nel caso in cui è in corso un'inflammatione acuta con edema e iperplasia del tessuto. Gli antinfiammatori consigliati sono prednisolone, desametasone, triamcinolone.

Gli antibiotici per via sistemica invece sono particolarmente indicati nel caso in cui è presente anche un'otite media. Nel trattamento dell'otite esterna la scelta del principio attivo inizialmente si basa sul riscontro dal reperto citologico. Se predominano i cocci, come gli stafilococchi e le catene di streptococchi, gli antibiotici più indicati sono cefalessina, amoxicillina-acido clavulanico e la clindamicina.

Nel caso invece di otite da *Pseudomonas* spp, che rappresenta tutt'ora una delle malattie dermatologiche più difficili da trattare, gli antibiotici consigliabili sono i fluorochinoloni come, enrofloxacin, marbofloxacin, ciprofloxacin.

Se all'esame microscopico viene riscontrata la presenza di parassiti come *Otodectes cynotis* o *Demodex* possono essere utilizzati diversi tipi di antiparassitari.

Davanti ad un'infezione da *Otodectes cynotis*, è importante ricordare che molti cani o gatti possono essere portatori asintomatici, e che quindi il trattamento antiparassitario non dovrà essere svolto solo sul soggetto sintomatico ma anche su tutti quelli con cui il paziente vive in contatto. Inoltre il ciclo vitale del parassita è di tre settimane, il trattamento quindi dovrà essere perpetuato per almeno 3 - 4 settimane. Gli antiparassitari usati per via sistemica sono ivermectina, selamectina e moxidectina.

## 7.2- Terapia chirurgica

L'intervento chirurgico è indicato nel caso in cui l'infiammazione cronica abbia provocato un'iperplasia tale da provocare la stenosi del canale, rendendo vano ogni tentativo di terapia medica (Harvey, 2002). Lo scopo della chirurgia è infatti quello di modificare l'anatomia del canale auricolare per favorire il drenaggio del materiale prodotto in eccesso, l'areazione del canale, facilitare la pulizia e ridurre il processo infiammatorio.

Una seconda indicazione, anche se meno frequente, è per il trattamento di neoplasie o polipi nel condotto uditivo.

Gli interventi chirurgici principali del condotto uditivo sono:

- a) Resezione della parete laterale del tratto verticale (tecnica di Zepp);
- b) Resezione del canale auricolare verticale;
- c) Ablazione totale del condotto uditivo (TECALBO).

a) La resezione della parete laterale del tratto verticale (tecnica di Zepp) fu descritta per la prima volta da Lacroix nel 1939. Fu poi modificata da Zepp che ne migliorò la tecnica aggiungendo il ribaltamento ventrale del flap nel 1949. A questa tecnica sono state aggiunte ulteriori modifiche, ma ancora oggi è conosciuta come tecnica di Zepp (Fossum, 2007)

La resezione della parete laterale è indicata in corso di otiti ricorrenti in cui l'iperplasia dell'epitelio e degli annessi sono ancora lievi, le modificazioni strutturali sono ancora potenzialmente reversibili e coinvolgono principalmente le porzioni più esterne dell'orecchio (Harvey et al, 2002).

Questo intervento infatti può dare ottimi risultati se eseguita precocemente (Fossum, 2007).

b) La resezione del canale auricolare verticale comporta l'asportazione del solo canale auricolare verticale, lasciando un orifizio che comunica direttamente col tratto orizzontale. Questo intervento è indicato quando l'otite ricorrente ha determinato delle proliferazioni iperplastiche ormai irreversibili della cartilagine del tratto verticale. Viene inoltre presa in considerazione quando sono presenti neoformazioni nel canale verticale (Harvey et al, 2002)

c) Ablazione totale del condotto uditivo: TECALBO (Total Ear Canal Ablation - Lateral Bulla Osteotomy). Questa procedura chirurgica prevede la rimozione del condotto uditivo esterno e di porzioni della parete latero-ventrale della bolla timpanica. In generale le indicazioni sono in caso di:

- otite proliferativa cronica "ultimo-stadio" (E.S.O. End Stage Otitis);
- otite persistente nonostante un precedente intervento chirurgico;
- otite media intrattabile;
- neoplasie.

In questa operazione una delle complicazioni intraoperatorie più comuni è data dalla presenza di gravi ispessimenti del canale orizzontale, di metaplasia ossea ed di ascessi intorno alla cartilagine anulare ed auricolare, che rendono la dissezione e visualizzazione del nervo facciale difficile. Lo stiramento o la resezione del nervo facciale porta alla sua paralisi, con possibile assenza di minaccia, paralisi monolaterale del labbro e dell'orecchio. Questa operazione inoltre porta alla perdita della funzione uditiva dell'organo; una chirurgia bilaterale porta quindi alla totale sordità del cane.

## Capitolo 8 - **Materiali e metodi**

### 8.1 Popolazione dello studio e raccolta dati

In questo studio sperimentale sono stati inclusi 219 casi clinici di cani presentati per una visita otologica presso l'Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" di San Piero a Grado. Il periodo di indagine è compreso tra gennaio 2010 e maggio 2014.

Per questi casi oltre al segnalamento: sesso, età, razza, sono stati inclusi nello studio i fattori predipendenti, le cause primarie, i fattori perpetuanti e le cause secondarie che possono aver provocato la patologia. Sono stati inoltre incluse nello studio le osservazioni raccolte all'esame microscopico, sia del preparato "a fresco" che di quello citologico.

### 8.2 Procedure cliniche per la raccolta dati

La visita del paziente con sospetta otite esterna è stata eseguita nella pressoché totalità dei casi da un veterinario dermatologo tramite: esame clinico completo, ispezione e palpazione dell'orecchio esterno, esame otoscopico e analisi del cerume del canale auricolare tramite un esame a fresco e un esame citologico ed eventualmente l'esame batteriologico.

Per ogni caso clinico, oltre al segnalamento, è stata raccolta un'accurata anamnesi.

L'anamnesi generale ha permesso di ottenere informazioni relative alla storia clinica dell'animale, alla dieta, all'ambiente in cui viveva, al suo impiego, alla convivenza di altri animali nel nucleo familiare, alla presenza o assenza di lesioni analoghe in altri animali o persone che vivevano nello stesso ambiente. Questi dati sono risultati utili per stabilire l'ordine di priorità delle possibili diagnosi differenziali.

In seguito venivano effettuate domande più mirate circa la patologia auricolare. L'anamnesi specifica riguarda quindi in maniera più dettagliata la patologia dermatologica in atto con riferimento in particolare alla tipologia delle lesioni, alle sedi iniziali di sviluppo delle lesioni, alla loro insorgenza e progressione, alla presenza o meno di prurito e alla comparsa di quest'ultimo anteriormente o posteriormente la comparsa delle lesioni.

L'animale è stato poi sottoposto ad esame obiettivo generale allo scopo di rilevare eventuali coinvolgimenti sistemici o altre patologie concomitanti.

Dopo la raccolta dell'anamnesi e l'esame obiettivo generale, è stata eseguita l'osservazione diretta del padiglione auricolare finalizzata ad evidenziare la presenza di alterazioni dell'epidermide quali: eritema, edema, lichenificazione, ulcerazioni.

In seguito, con l'ausilio dell'otoscopio, è stato osservato il canale auricolare ed in particolare la sua pervietà, lo stato dell'epidermide, la presenza del cerume con particolare attenzione alla quantità, odore e consistenza e quando possibile la membrana timpanica e la sua integrità.

Una volta terminata la visita clinica si è proceduto con il prelievo del materiale presente nel condotto auricolare. Sono stati utilizzati a tale fine dei tamponi auricolari.

Per la raccolta del cerume dal canale auricolare è stato disteso il padiglione per entrare col tampone nel meato uditivo esterno fino a raggiungere la parte iniziale della porzione orizzontale che coincide con la parte finale della porzione verticale dell'orecchio esterno.

A tal punto il tampone è stato ruotato ripetutamente.

Per la ricerca di parassiti il materiale prelevato dal canale auricolare è stato posto sul vetrino porta oggetti, mescolato ad olio minerale, coperto da vetrino coprioggetti e valutato ad ingrandimento 10X.

Per allestire invece il preparato citologico il tampone auricolare è stato fatto rotolare sul vetrino porta-oggetti. Due strisce parallele su uno stesso vetrino rappresentavano rispettivamente l'orecchio destro e l'orecchio sinistro.

Prima di eseguire la colorazione, per far aderire le strutture cellulari sulla superficie del vetrino, questo è stato asciugato tramite phon o tramite l'ausilio di una fiamma fatta scorrere al di sotto del preparato. La colorazione è stata effettuata con Diff-quick. Dopo la fissazione con Metanolo, l'immersione nell'Eosina, ha colorato le componenti acidofile, e quella nel Blu di Metilene, ha colorato le componenti basofile. Al termine dell'ultima immersione, è stato effettuato un lavaggio con acqua.

Una volta asciugato il vetrino è stato osservato al microscopio per l'identificazione di cheratinociti, cellule infiammatorie, batteri e *Mallassezia sp.*

I dati relativi alla presenza di batteri, coccoidi/bastoncellari, e *Mallassezia* sono stati ottenuti con la visualizzazione microscopica ad immersione a 100X.

Per ogni vetrino sono stati osservati almeno 4 campi ottici.

Il numero relativo di ogni microrganismo è stato valutato con un'analisi semi quantitativa e classificato con una scala da 1 a 4 secondo il seguente criterio:

- <sup>35</sup><sub>17</sub> 0: nessun microrganismo per campo ottico;
- <sup>35</sup><sub>17</sub> 1: da 1 a 10 microrganismi per campo ottico
- <sup>35</sup><sub>17</sub> 2: da 11 a 30 organismi per campo ottico;
- <sup>35</sup><sub>17</sub> 3: oltre 30 organismi per campo ottico.

#### Esame batteriologico

L'essudato è stato raccolto tramite un tampone sterile inserendolo quando possibile sino alla porzione orizzontale del meato acustico.



Una volta estratto è stato inserito in un mezzo di trasporto di Stuart (Stuarts transport medium), è stato subito posto in frigorifero ad una temperatura costante di 4°C e successivamente inviato al laboratorio microbiologico in breve tempo. Le analisi batteriologiche sono state svolte presso il dipartimento di Scienze Veterinarie di Pisa; i campioni sono stati seminati prima su un terreno non selettivo come Agar Sangue, successivamente le colonie isolate, sono state nuovamente seminate su Agar Sale Mannite (Oxoid, Milano, Italia), terreno selettivo e differenziale indicato per l'isolamento degli stafilococchi, e le piastre sono state poste in incubazione a 37°C per 24 ore. Terminata l'incubazione, le colonie batteriche riferibili a *Staphylococcus spp.* sulla base delle caratteristiche morfologiche macroscopiche (aspetto, dimensioni, forma, colore) e microscopiche (colorazione di Gram, test della catalasi) sono state selezionate e sottoposte a subcoltura su Trypticase Soy Agar addizionato con il 5% di sangue di montone (Oxoid, Milano, Italia), al fine di ottenere una coltura pura.

L'identificazione a livello di specie dei ceppi isolati è stata eseguita su base biochimica, mediante il sistema semi-automatizzato miniAPI (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, Fran ) mediante l'impiego della galleria ID 32 STAPH. Questa galleria, costituita da 32 pozzetti contenenti un terreno di reazione disidratato, rappresenta un sistema identificativo per la maggior parte delle specie appartenenti al genere *Staphylococcus* mediante test biochimici standardizzati e miniaturizzati ed un database specifico.

Dopo aver incubato la galleria per 24 ore a 37°C, la lettura e l'interpretazione dei risultati sono state effettuate automaticamente dallo strumento, in grado di rilevare, all'interno di ogni pozzetto, le reazioni enzimatiche tradotte in viraggi cromatici spontanei o rivelati mediante l'aggiunta di reattivi.

I batteri identificati sono stati saggiati per la sensibilità nei confronti di 15 antibiotici con il metodo della diffusione su agar, secondo la tecnica di Kirby Bauer. In particolare sono stati saggiati 4 antibiotici appartenenti alla classe delle Penicilline (Penicillina, Amoxicillina, Amoxicillina/clav), 4 alle Cefalosporine (Cefalotina, Cefoperazone, Cefquinone, Cefalexina), 2 tetracicline (Tetraciclina, Doxyciclina), un macrolide (Eritromicina), un fluorochinolone (Enrofloxacin), un sulfamidico (Sulfametizolo), Rifampicina (antibiotico battericida del gruppo delle rifamicine) e Ac-fusidico (batteriostatico a struttura steroidea).

Per ciascun ceppo batterico sono state selezionate 3-5 colonie isolate che sono state risospese in soluzione salina. La sospensione batterica è stata standardizzata ad una torbidità equivalente a 0.5 McFarland mediante un densitometro e seminata in maniera uniforme sulla superficie di una piastra di Mueller Hinton Agar (Oxoid, Milano, Italia) mediante un tampone sterile. Entro 15 minuti da tale operazione, sulla superficie del terreno sono stati applicati un massimo di 4 dischetti contenenti l'antibiotico mediante pinze sterili.

Dopo incubazione delle piastre a 37°C per 24 ore si è proceduto con la misurazione del diametro degli aloni d'inibizione e con l'interpretazione dei risultati. La sensibilità degli isolati verso gli antibiotici testati è stata stabilita seguendo i criteri interpretativi indicati dal Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2009).

Sono state calcolate le prevalenze per sesso e razza. La popolazione di cani oggetto dello studio è stata confrontata con quella dei cani pervenuti all'Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" nel periodo compreso tra gennaio 2010 e maggio 2014.

I confronti statistici sono stati eseguiti con il metodo del Chi-quadrato o il test esatto di Fisher's per popolazioni inferiori a 5 soggetti tramite il programma GraphPad Prism. Sono state considerate significative le differenze per  $p < 0,05$ .

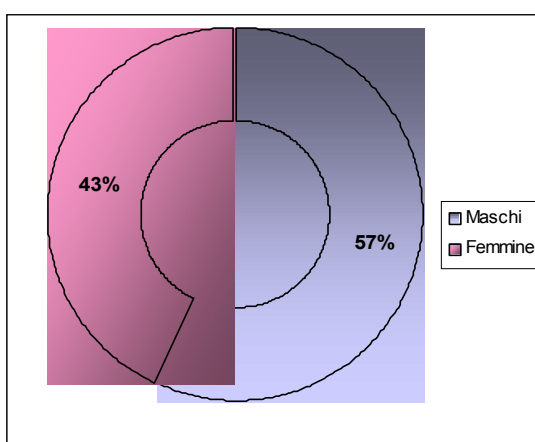
Sui restanti parametri sono state calcolate le percentuali.

## Capitolo 9

### Risultati

#### 9.1 - Prevalenza dei sessi

Dei 219 cani osservati 125 sono risultati maschi, di cui 1 castrato, e 94 femmine, di cui 28 sterilizzate. Il confronto statistico con la popolazione di riferimento non ha stabilito una prevalenza significativa nel sesso maschile.



sexo	casi tesi	% casi tesi
maschi	125	57,08%
femmine	94	42,92%

Grafico & Tabella 1: Percentuale della popolazione maschile e femminile

#### 9.2 - Razze

La popolazione dello studio è composta da 184 cani di razza pura e 35 cani meticci.

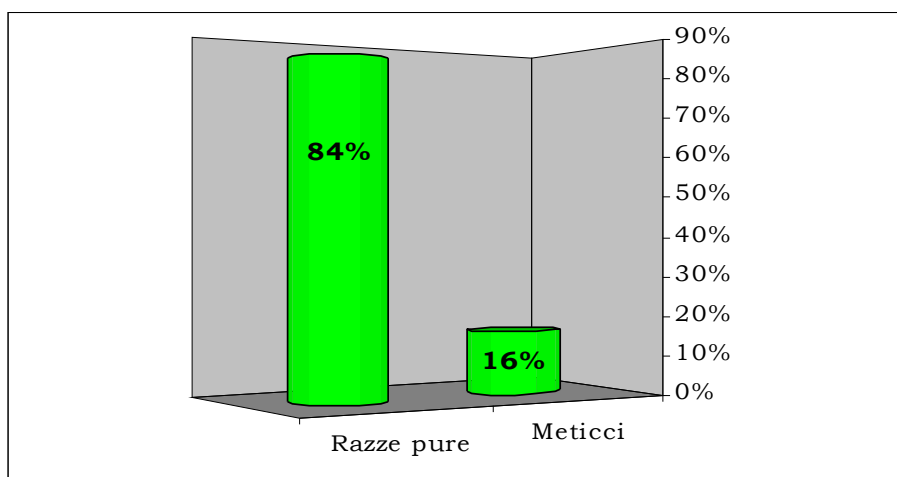


Grafico 2: Percentuale della popolazione di razza pura e meticci

Per lo studio sono stati considerate tutte le razze canine rappresentate da almeno quattro soggetti.

Le restanti razze, di cui il numero non superava i tre soggetti, non essendo sufficientemente rappresentate, sono state classificate nella categoria "Altre Razze".

Razza	n° soggetti	%
Labrador	27	12,33%
Pastore tedesco	19	8,68%
Bulldog	14	6,39%
Cocker spaniel	11	5,02%
Boxer	9	4,11%
Golden retriever	9	4,11%
West Highland white	8	3,65%
Beagle	7	3,20%
Cavalier king charles	6	2,74%
Bassotto	5	2,28%
Bull terrier	5	2,28%
Springher Spaniel	5	2,28%
American Staf.	4	1,83%
Barboncino	4	1,83%
Bracco	4	1,83%
Maltese	4	1,83%
Sharpei	4	1,83%
Bassethound	3	1,37%
Carlino	3	1,37%
Meticcio	35	15,98%
Altre razze	33	15,07%

Tabella 2: Percentuale delle razze nella popolazione di studio

Tra i cani del nostro studio, la razza più rappresentata è stata il Labrador con 27 soggetti (12,33%), seguita dal Pastore tedesco con 19 soggetti (8,68%), il Bulldog con 14 soggetti (6,39%), il Cocker spaniel con 11 soggetti (4,57%) ed il Boxer e Golden retrivers con 9 soggetti (4,11%).

Il confronto statistico con la popolazione di riferimento non ha stabilito una prevalenza significativa in nessuna delle razze esaminate.

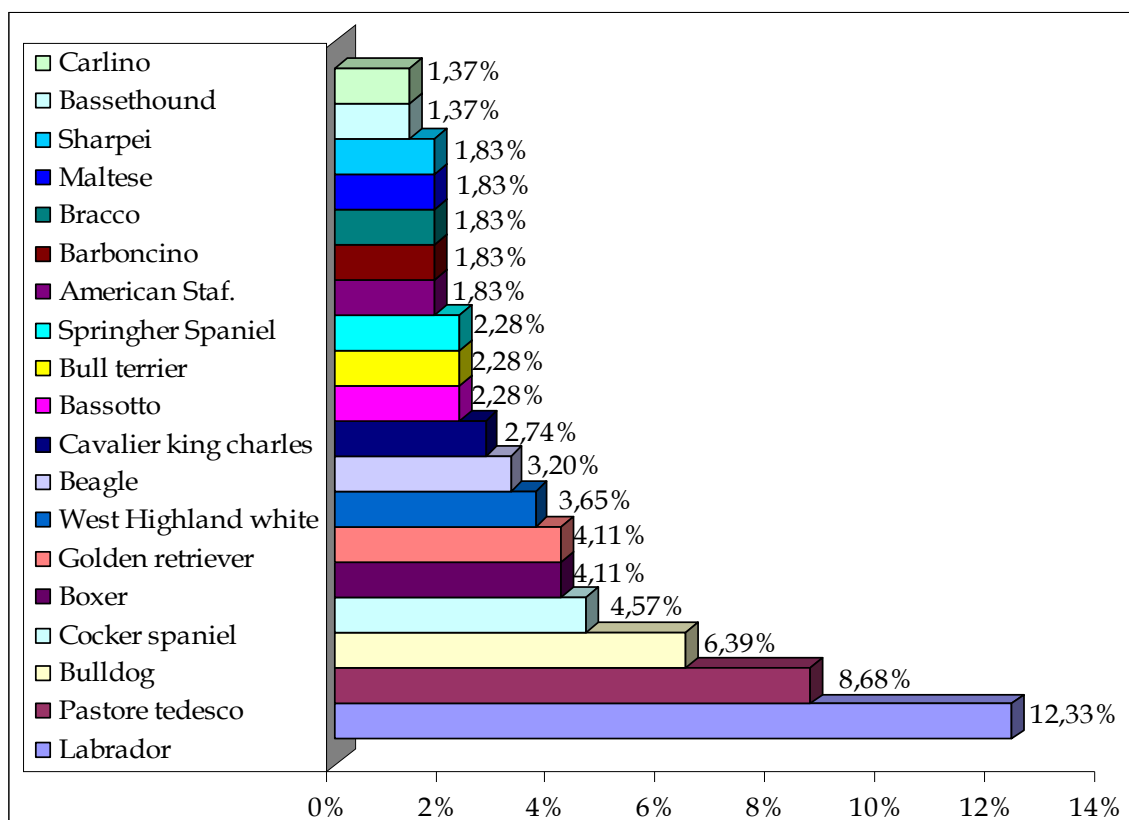


Grafico 3: Percentuale delle razze nella popolazione di studio

### 9.3 - Età alla diagnosi

L'età dei cani alla diagnosi varia da 6 mesi ad 14 anni.

Attraverso la valutazione dell'anamnesi abbiamo potuto osservare che la maggior parte dei soggetti, 77 (35,16% ), ha presentato otite esterne in età compresa tra i 4 e i 6 anni. Invece 58 cani (26,48%) hanno mostrato i primi sintomi tra l'uno e i 3 anni; 48 cani (21,92%) tra i 7 e i 9 anni; 31 cani (14,16%) tra i 10 e i 12 anni; 3 cani (1,37%) oltre i 12 anni e 2 soggetti (0,91%) avevano meno di un anno (Grafico 4).

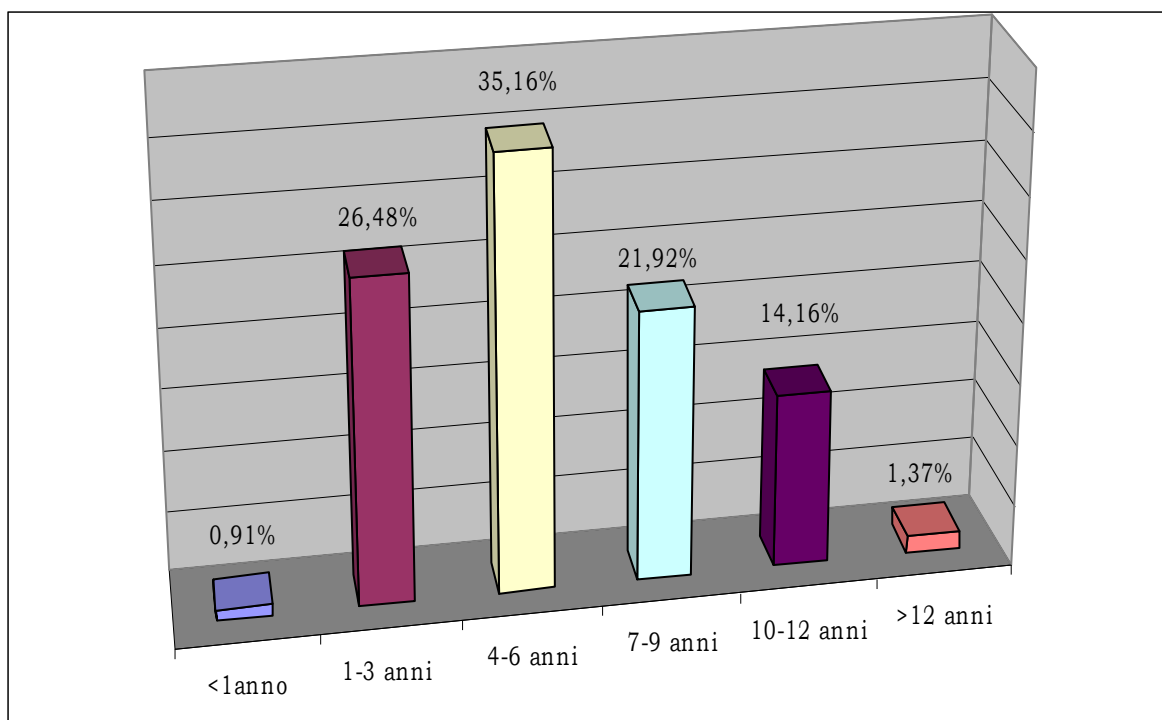


Grafico 4: Distribuzione dei casi per fascia di età

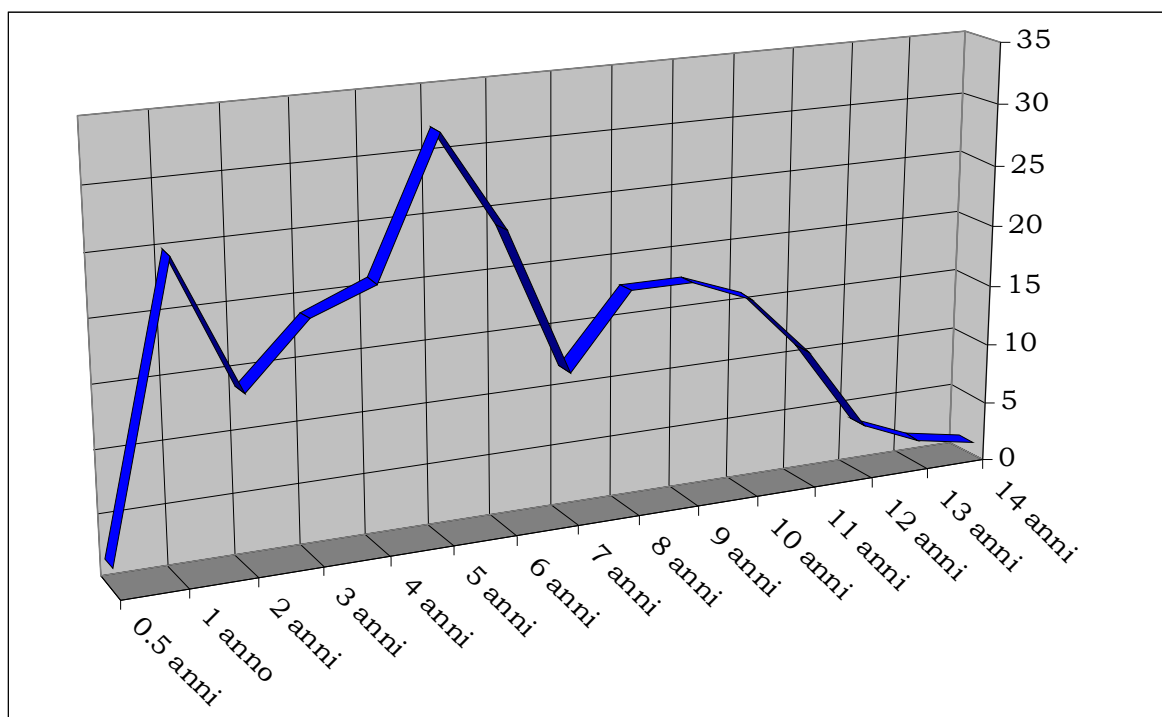


Grafico 5: Distribuzione dei casi per anno di età

#### 9.4 - Cause primarie e fattori predisponenti

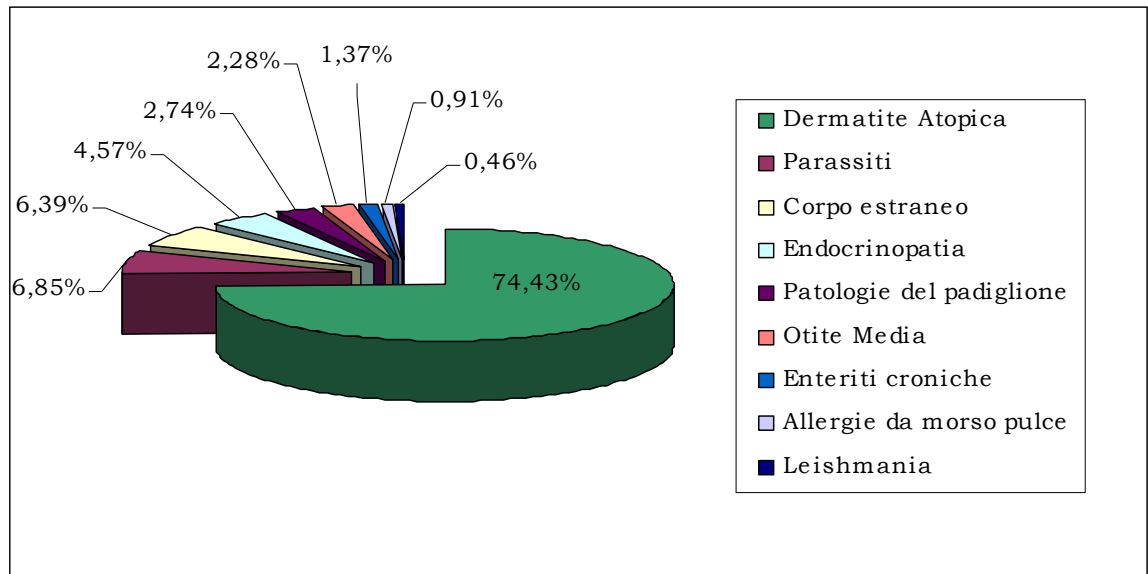
Ad ogni caso clinico, in base alla natura dei sintomi, alla visita otologica e dai referti citologici è stata associata una causa d'insorgenza.

Tra le cause sono state ritrovate la dermatite atopica, le parassitosi tra cui *Otodectes Cynotis*, *Demodex sp*, *Sarcoptes sp*, i corpi estranei, le endocrinopatie, patologie varie del padiglione auricolare, otiti medie, enteriti croniche, allergie da morso di pulce e la Leishmania.

Tabella 3 & Grafico 6: Distribuzione delle cause primarie e predisponenti

	n° casi	%
Dermatite Atopica	163	74,43%
Parassiti	15	6,85%
Corpo estraneo	14	6,39%
Endocrinopatia	10	4,57%
Patologie del padiglione	6	2,74%
Otite Media	5	2,28%
Enteriti croniche	3	1,37%
Allergie da morso pulce	2	0,91%
Leishmania	1	0,46%





## 9.5 - Esame citologico

Dei 219 casi di otite esterna, tra i dati recuperati dal sistema e quelli presi direttamente, è stato possibile avere una stima dei batteri presenti nel preparato citologico in 142 casi.

	Cocchi		Bastoncelli		Malassezia	
	n°casi	%	n°casi	%	n°casi	%
Assenti	34	23,94	81	57,04	43	30,28
Presenti	108	76,06	61	42,96	99	69,72

Tabella 4: Prevalenza dei patogeni osservati nei preparati microscopici

	Cocchi		Bastoncelli		Malassezia	
	n°casi	%	n°casi	%	n°casi	%
0	34	23,94	81	57,04	43	30,28
1	19	13,38	22	15,49	19	13,38
2	52	36,62	23	16,20	62	43,66
3	37	26,06	16	11,27	18	12,68

Tabella 5: Quantificazione della prevalenza dei patogeni osservati nei preparati microscopici

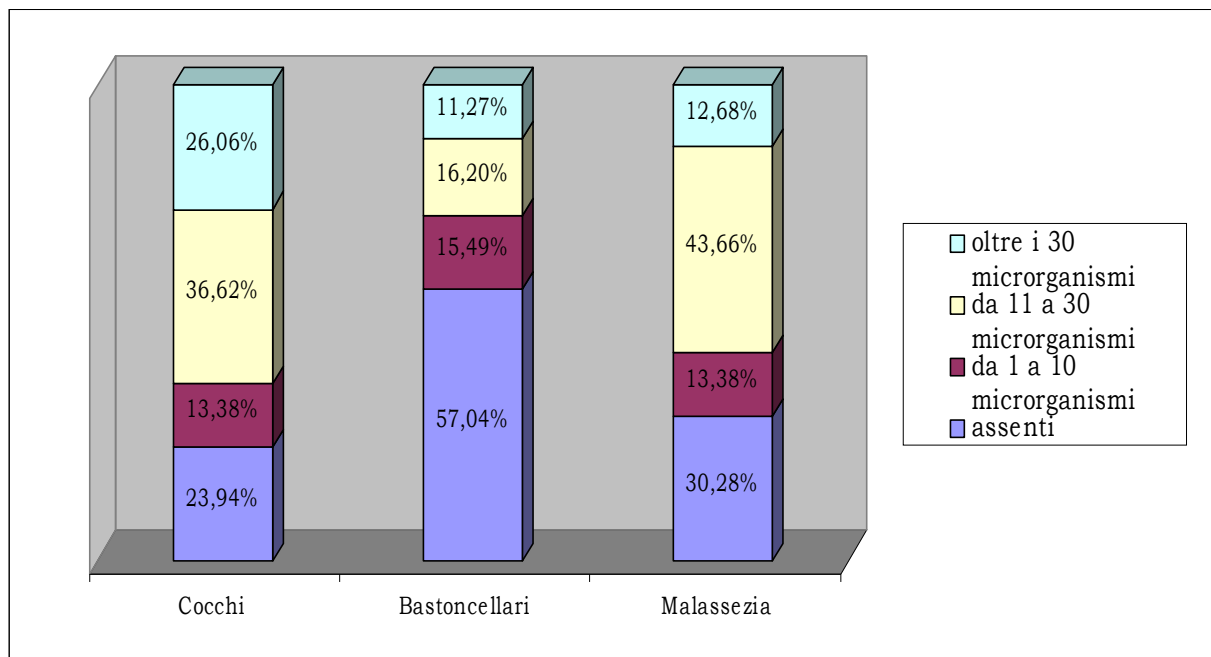


Grafico 7: Quantificazione della prevalenza dei patogeni osservati nei preparati microscopici

## 9.6 – Esame colturale e antibiogramma

Dei 219 casi di otiti esterne, 38 hanno eseguito l'esame colturale ed un antibiogramma. Dei 38 campioni raccolti in 6 è stata osservata assenza di crescita microbica.

I batteri GRAM negativi più rappresentati sono stati:

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35%
<i>Escherichia coli</i>	7%
<i>Proteus mirabilis</i>	5%
<i>Proteus vulgaris</i>	5%

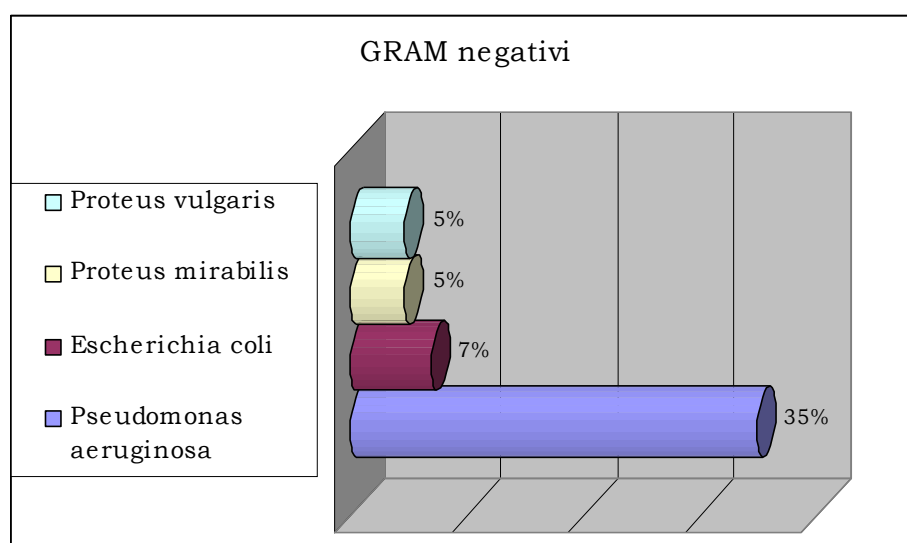


Grafico 8: Prevalenza dei patogeni Gram negativi

I batteri GRAM positivi isolati sono stati:

<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	26%
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	7%
<i>Staphylococcus scheleiferi</i>	7%
<i>Staphylococcus canis</i>	2%

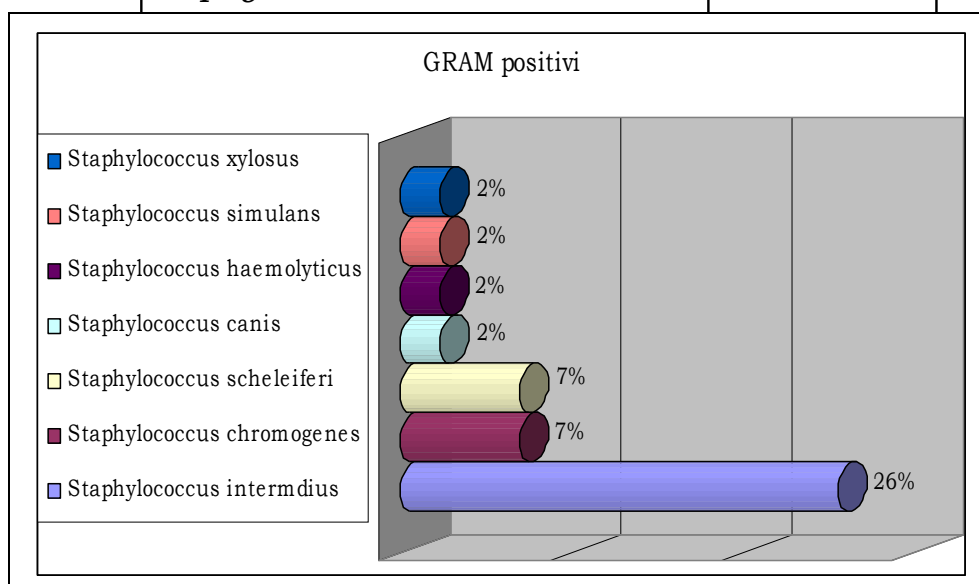


Grafico 9: Prevalenza dei patogeni Gram positivi

L'esame colturale ha permesso di identificare più popolazioni in associazione:

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22%
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	19%
<i>Staphylococcus pseudointermedius, Pseudomonas aeruginosa</i>	13%
<i>Staphylococcus scheleiferi, Pseudomonas aeruginosa</i>	9%
<i>Staphylococcus chromogenes, Pseudomonas aeruginosa</i>	6%
<i>Staphylococcus canis, Pseudomonas aeruginosa</i>	3%
<i>Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli</i>	3%
<i>Staphylococcus chromogenes, Escherichia coli</i>	3%
<i>Staphylococcus pseudointermedius, Proteus mirabilis</i>	3%
<i>Staphylococcus xylosus, Proteus vulgaris</i>	3%
<i>Staphylococcus simulans</i>	3%
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3%
<i>Escherichia coli</i>	3%
<i>Proteus vulgaris</i>	3%
<i>Proteus mirabilis</i>	3%

Tabella 6: Percentuale delle associazioni batteriche

L'antibiogramma ha messo in evidenza che *Pseudomonas aeruginosa* è risultato resistente nell'80% dei casi a enrofloxacin, nel 73% a rifampicina, nel 66% a cefalexina e nel 53% alle tetracicline. I ceppi di *S. pseudointermedius* isolati sono risultati resistenti nel 54,5% a enrofloxacin, doxiciclina e cefalexina, e il 27,7 % alle penicilline.

Le sensibilità più frequenti nei confronti di *Pseudomonas aeruginosa* sono risultate verso l'amoxicillina e la doxiciclina nel 53% dei casi, verso la colistina e le kanamicina nel 60% dei casi, verso la marbofloxacin, difloxacin e cefotazime nel 73.3% dei casi e verso la clindamicina, la pradofloxacin e il ceftiofur nel 93% dei casi.

Le sensibilità più frequenti nei confronti di *Staphylococcus pseudointermedius* sono risultate verso la marbofloxacin e il cefotazime nel 80% dei casi, verso l'amoxicillina, la clindamicina e la doxiciclina nel 90% dei casi e verso la colistina e la kanamicina in tutti i casi presenti e.

I ceppi di *S. schleiferi* isolati sono risultati resistenti nel 66,6% a colistina, e metronidazolo e nel 33,3% a rifampicina, enrofloxacin e sulfamidici. Mentre la sensibilità più frequente era verso la doxiciclina, la tetraciclina, l'eritomicina, l'ampicillina, l'amoxicillina, la kanamicina e l'amoxicillina/ac.clavulanico.

#### 9.7 Intervento Chirurgico

Nel nostro studio è stato consigliato un intervento chirurgico causa inefficacia trattamento medico e ostruzione del condotto; 9 di questi casi hanno effettuato l'intervento chirurgico presso l'ospedale "Mario Modenato" di S Piero a Grado.

Le operazioni eseguite sono state 5 Zepp, di cui 3 bilaterali, e 4 TE-CALBO.

**Discussione e conclusioni**

Otite l'esterna è una patologia che può manifestarsi in qualsiasi cane, indipendentemente dalla razza, dal sesso o dall'età.

Ha una prevalenza del 10-20% sulla popolazione canina (Scott 2001) ed in particolare i più colpiti sono i cani tra i 5 e i 7 anni (Cowell et al, 1996; Ginel et al, 2002).

Dai risultati ottenuti con questo studio è risultato che il 57,08% dei soggetti colpiti sono maschi e 42,92%% sono femmine. Tuttavia questa prevalenza è risultata non significativa nel confronto statistico con l'intera popolazione di cani maschi e femmine pervenuta in clinica durante il periodo di studio.

L'influenza del sesso nell'otite esterna non è stata provata e la letteratura scientifica offre dati discordanti. In un'indagine alcuni autori (Zur et al. 2011) hanno osservato una prevalenza non statisticamente significativa nei maschi (53,7% vs 46,3%), altri (Saridomichelakis et al 2007) hanno rilevato una prevalenza maggiore nelle femmine (45% vs 55%) ed infine, solo in un articolo (Carlotti 1997) è stata determinata una differenza statisticamente significativa nelle prevalenza delle femmine. Riteniamo alla luce dei nostri risultati e di quelli della letteratura consultata, che il genere non abbia importanza nel determinismo delle otiti e che i risultati delle varie indagini siano influenzati dalla maggiore o minore presenza di uno dei due sessi nella popolazione canina del distretto geografico oggetto dell'indagine.

L'età alla diagnosi dell'otite mostra due picchi d'insorgenza: a 1 anno e a 5 anni, sebbene la maggiore prevalenza delle otiti abbia esordio tra i 4 e i 6 anni.

Speculando sull'elevata prevalenza della Dermatite atopica quale causa predisponente, questi due picchi possono essere spiegati come segue: il primo perché l'otite esterna è frequentemente il primo sintomo di questa malattia ed è in questa occasione che vengono identificati anche i sintomi e i segni tipici della D. atopica.

Nel secondo caso si tratta perlopiù di soggetti che hanno otiti croniche avanzate, ove la D. atopica non è stata ben controllata.

Diversi studi hanno dimostrato la predisposizione di alcune razze rispetto ad altre. In uno studio recente (Zur, Lifshitz, Bdolah-Abram, 2011) il Pastore tedesco, gli Shar-pei e i Cocker spaniel, erano le razze maggiormente rappresentate. In altre indagini invece le razze più rappresentate sono risultate il Pastore tedesco, il Boxer, i Barboncini, il Labrador (Viorica Mircean et al, 2008), i Cocker spaniel, i Barboncini e il Pastore dei pirenei (Carlotti, 1997– Harvey et al 2001– Bensignor et al, 2000).

In questo studio le razze più rappresentate sono state il Labrador, il Pastore tedesco, il Bulldog, il Cocker spaniel, il Boxer e Golden retriever. In nessuna delle razze con apparente maggiore prevalenza, il confronto con la popolazione di riferimento non ha stabilito una differenza statisticamente significativa. Nella nostra popolazione: gli Shar-pei (0.66%), i Barboncini (4,47%) e il Pastore dei pirenei (1 solo soggetto), che in altre indagini risultavano essere a maggior rischio di otiti, sono risultate scarsamente rappresentate e per tale motivo non è stato possibile fornire un dato statisticamente attendibile circa la prevalenza di otiti. Le indagini epidemiologiche dove è stata considerata la prevalenza delle razze, la nostra inclusa, offrono un panorama piuttosto vario di razze a rischio di otite esterna. Le differenze anche in questo caso sono certamente relative alla maggiore presenza di alcune di queste nei paesi dove è stata condotta l'indagine. Tra queste razze in tutte le indagini sono risultate a maggior prevalenza i Pastori tedeschi, Labrador e Boxer

sono tra le razze con maggiore predisposizione per la Dermatite atopica (Scott et al, 2001).

Nei casi di otite esterna l'evento scatenante può essere rappresentato da un singolo agente eziologico o essere il risultato della somma di più fattori. La dermatite atopica è riconosciuta come la causa primaria più comune dell'otite esterna (Patterson, 2002 – Harvey, 2001 – Carlotti, 1997). L'incidenza della dermatite atopica nella popolazione canina è almeno del 10% (Muse, 1996), il 73 % dei quali manifestano un'otite esterna (Scott, 2001 - Muse, 1996). In questo studio, è stato determinato che 163/219 soggetti (74,43%) erano affetti da dermatite atopica.

Nel nostro studio la seconda causa primaria è rappresentata dalle parassitosi. Gli agenti responsabili delle otiti parassitarie identificati sono risultati l'*Otodectes Cynotis*, il *Demodex sp* e il *Sarcoptes sp*. L'*Otodectes Cynotis* è il parassita di più facile riscontro nel gatto, nel cane invece è responsabile del 5- 10% delle otiti esterne (Scott et al, 2001). I casi di otiti parassitarie nel nostro studio sono risultate 15 (6,85%), dato verosimilmente in accordo con quanto riportato da Scott et al. del 2001.

Nel nostro studio le endocrinopatie sono state causa predisponente di otite esterna in 10 casi (4,57%), dato questo simile a quanto rilevato da altri autori (Zur, Lifshitz, Bdolah-Abram, 2011) che hanno identificato le malattie endocrine causa di otite esterna nel 6,1% dei loro casi.

La flogosi in corso di otite esterna induce una cascata di eventi che rende l'orecchio un ambiente favorevole alla moltiplicazione dei micro-organismi patogeni. I comuni patogeni secondari in corso d'otite sono batteri: *Staphylococcus pseudointermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp*, e lieviti: la *Malassezia pachydermatis* (Blue et al, 1977 - Cole et al, 1998 - Scott 2001 - Graham-Mize et al, 2004).



La *Malassezia sp* viene isolata nel 20-50% da orecchie sane e nel 72% dei casi da orecchie affette da otite (Kennis et al, 1996). Nel nostro studio è stata osservata nei preparati microscopici nel 69,72% dei casi. Questo dato oltre a essere in accordo con la letteratura consultata, non sorprende considerando che il 74,43% dei cani della nostra popolazione era composta da cani con dermatite atopica, che è in assoluto la malattia predisponente più importante della malasseziosi.

L'esame citologico ha rilevato la presenza di cocci nel 76,06% dei casi e di bastoncelli nel 42,96%.

A conferma di questo, i batteri isolati più comunemente nella nostra indagine sono risultati cocci come lo *Staphylococcus pseudointermedius* e bastoncelli come lo *Pseudomonas aeruginosa*.

Nel 22% dei casi lo *Pseudomonas aeruginosa* era l'unica popolazione presente e nel 13% dei casi era concomitante ad un'infezione da *Staphylococcus pseudointermedius*. Quest'ultimo è stato isolato in coltura pura nel 19% dei casi. Infine, sono stati isolati in associazione nel 9% dei casi di *Staphylococcus scheleiferi* e *Pseudomonas aeruginosa*. I casi in cui è stato necessario ricorrere all'esame colturale e relativo antibiogramma erano cani in cui il trattamento medico non risultava più soddisfacente. Nei 38 casi esaminati infatti le resistenze sono state identificate in un numero elevato dei casi, imponendo una scelta di farmaci talvolta alternativi e/o in associazione con altri.

Lo stato infiammatorio cronico indotto da infezioni batteriche persistenti può provocare gravi modificazioni del condotto uditivo dove la pelle si ispessisce riducendo il lume del condotto e le difese dell'epidermide. In seguito a questo, nei casi più gravi si può osservare l'ossificazione della porzione cartilaginea (Diane Bevier, 2009). In queste occorrenze, poiché la terapia medica risulta inefficace, è necessario ricorrere a interventi chirurgici con la rimozione parziale o totale del condotto.

Nei nove casi clinici, in cui è stata effettuato l'intervento chirurgico, le tecniche utilizzate sono state 5 di Zepp, di cui 3 bilaterali, e 4 di TECALBO.

La tecnica di Zepp è stata eseguita in quei soggetti dove le alterazioni erano riferibili soltanto alla porzione più esterna del canale, in quanto come riportato in diversi studi, il suo successo terapeutico non è garantito in presenza di alterazioni croniche ed irreversibili dell'epitelio del lume (Lane, 1979 – Krahwinkel, 1989). Specialmente nella razza Cocker spaniel, questa tecnica si è dimostrata spesso inefficace, sia per la predisposizione a recidive che per la frequente concomitanza di otite media in tale razza (Sylvestre, 1998). Il Cocker spaniel operato durante il periodo di indagine del nostro studio, in accordo con quanto precedentemente detto, aveva un quadro clinico tale da richiedere appunto una TECALBO.

In conclusione, anche la nostra indagine ha messo in evidenza che la Dermatite atopica ed in minore misura le parassitosi e le endocrinopatie sono causa frequente di otite esterna bilaterale. Dalla disamina dei risultati, i sintomi riferibili all'otite esterna sono di frequente l'unico motivo della visita, per questo motivo i dati epidemiologici di carattere clinico anche in questa indagine indicano che l'accurata conoscenza delle cause primarie è indispensabile per il trattamento dell'otite esterna "di per se" e delle cause primarie e fattori perpetuanti. Questi fattori se non efficacemente controllati non permettono una remissione di lunga durata della flogosi del padiglione e condotto uditivo con il conseguente peggioramento dell'otite esterna.

## Bibliografia

❖ Angus JC, Lichtensteiger C, Campbell KL, Schaeffer DJ 2002  
*Breed variations in histopathologic features of chronic severe otitis externa in dogs: 80 cases.*  
Journal of the American Veterinary Medical Association; 221:1000–6.

❖ Angus JC 2005  
*Pathogenesis of otitis externa: understanding primary causes*  
The North American Veterinary Conference; pp 807-810.

❖ August JR 1988  
*Otitis externa: a disease of multifactorial etiology.*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 18:731–42.

❖ Bensignor, Legey, Medaille 2000  
*Etude prospective sur les otites externes du chien adulte en France.*  
Pratique Médicale et Chirurgicale de Animal de Compagnie; 35: 405–14.

❖ Blue & Wooley 1977  
*Antibacterial sensitivity patterns of bacteria isolated from dogs with otitis externa.*  
Journal of the American Veterinary Medical Association; 171: 362-363.

❖ Carlotti DN, Taillieu-Leroy S. 1997  
*L'otite externe chez le chien: étiologie et clinique, revue bibliographique et étude rétrospective portant sur 752 cas.*  
Pratique Médicale et Chirurgicale de Animal de Compagnie; 32: 243–57.

❖ CASFM, 2009  
Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.  
[http://www.sfm.asso.fr/doc/download.php?doc=DiU8C&fic=casfm\\_2009.pdf](http://www.sfm.asso.fr/doc/download.php?doc=DiU8C&fic=casfm_2009.pdf)

❖ Chaudhary M, Mirakhur KK, Roy KS 2002  
*Histopathological and histochemical studies on chronic otitis in dogs*  
Indian Journal of Animal Science; 72:128–9.

❖ Chickering WR 2004  
*Cytologic evaluation of otic exudates.*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice 1988; 18:773–82.

❖ Cole LK, Kwochka KW, Podell M, Hillier A, Smeak DD 2002.  
*Evaluation of radiography, otoscopy, pneumatoscopy, impedance audiometry and endoscopy for the diagnosis of otitis media in the dog.*  
In: Thoday KL, Foil CS, Bond R, editors. Advances in veterinary dermatology, vol. 4. Ames: Iowa State Press; p. 49–55.

- ❖ Cole LK, Schwassmann M. 2002  
*Antibiotic use in chronic otitis externa.*  
In: Thoday KL, Foil CS, Bond R, editors. *Advances in veterinary dermatology*, vol. 4. Oxford: Blackwell Science; p. 213-23.
- ❖ Cole, L. K. 2009  
*Anatomy and physiology of the canine ear*  
Journal compilation ESVD and ACVD Veterinary Dermatology; 20: 412-421.
- ❖ Cole, L. K., Kwochka, K. W., Kowalski, J. J. & Hillier, A. 1998  
*Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media.*  
Journal of the American Veterinary Medical Association 212; 534-538.
- ❖ Colombini S, Merchant SR, Hosgood G 2000  
*Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of dogs with otitis media.*  
Veterinary Dermatology; 11:235-9.
- ❖ Cowell, R.D.Tyler, C.J.Baldwin, 1996  
*Canale auricolare esterno.*  
In: *Citologia ed ematologia diagnostica del cane e del gatto*; 6: 83-87.
- ❖ Diane E. Bevier 2009  
*Otitis externa*  
The North American Veterinary Conference; pp 709-710.
- ❖ Evans HE. 1993  
*The ear.*  
In: *Miller's anatomy of the dog*. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders; p. 988-1008.
- ❖ Fernando SDA 1967  
*Certain histopathologic features of the external auditory meatus of the cat and dog with otitis externa*  
Journal of Small Animal Practice; 28:278-82.
- ❖ Fossum TW. 2007  
*In: Small animal surgery* III edition,  
Editore: Elsevier; cap 17 pp 307.
- ❖ Fraser G. 1961  
*The histology of the external auditory meatus of the dog;*  
Journal of Small Animal Practice; 71:253-8.
- ❖ Frost CR. 1961  
*Canine otocariasis.*  
Journal of Small Animal Practice; 2: 253-6.

- ❖ Getty R, Foust HL, Presley ET, Miller ME. 1956  
*Macroscopic anatomy of the ear of the dog*  
American Journal Veterinary research; 17:364–75.
  
- ❖ Ginel PJ, Lucena R, Rodriquez JC, Ortega J. 2002  
*A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats.*  
Veterinary Dermatology; 13:151–6.
  
- ❖ Gotthelf LN 2000  
*Factors that predispose the ear to otitis externa.*  
In: Small animal ear diseases: an illustrated guide.  
Philadelphia: WB Saunders; p. 46–78.
  
- ❖ Graham-Mize, C. A. & Rosser 2004  
*Comparison of microbial isolates and susceptibility patterns from the external ear canal of dogs with otitis externa.*  
Journal of the American Animal Hospital Association; 40: 102-108.
  
- ❖ Griffin CE 1993  
*Otitis externa and otitis media.*  
In: Griffin CE, Kwochka KW, MacDonald JM, editors. Current veterinary dermatology: the science and art of therapy. St. Louis: Mosby Year Book;. p. 245–62.
  
- ❖ Griffin CE, DeBoer DJ. 2001  
*The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis.*  
Veterinary Immunology and Immunopathology; 81: 255–69.
  
- ❖ Grono 1970  
*Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog I-II-III*  
Research in Veterinary Science; 11: 385-392.
  
- ❖ Guillot J, Bond R. 1999  
*Malassezia pachydermatis: a review.*  
Med Mycol 1999; 37:295–306.
  
- ❖ Harvey, Mc Keever 2002  
*Dermatologia del cane e del gatto*  
Sez. 1; Dermatosi pruriginose – dermatite atopica pp. 20.
  
- ❖ Harvey RG, Harari J, Delauche AJ 2001  
*Diagnostic procedures and Ear Disease of the Dog and Cat.*  
In: Ear diseases of the dog and cat. Ames: Iowa State University Press; p. 43–80.
  
- ❖ Harvey RG, Harari J, Delauche AJ. 2001  
*Etiopathogenesis and classification of otitis externa.*  
In: Ear diseases of the dog and cat. Ames: Iowa State University Press; p. 81–122.

- ❖ Heine, P. 2004  
*Anatomy of the ear.*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. 212;  
535-538.
  
- ❖ Huang, Shih & Chen 1998  
*The application of an infrared tympanic membrane thermometer*  
In: Advance in Vet. dermatology, vol. 3, Butterworth Heinemann, pp 57-63.
  
- ❖ Huang, Little 1994  
*Lipid content of cerumen from normal dogs and otitic canine ears.*  
Veterinary Record 134; 380-381
  
- ❖ Huang, Shih 1998  
*Use of infrared thermometry and effects of otitis externa on external ear canals temperature*  
Journal of the American Veterinary Medical Association pp 76-79.
  
- ❖ Knapp, Melly 1986  
*Bactericidal effects of polyunsaturated fatty acids.*  
Journal of Infectious Diseases 154; 84-94.
  
- ❖ Kennis, E. Rosser, Oliver 1996  
*Quantity and distribution of Malassezia organisms of the skin of clinically normal dogs.*  
Journal of the American Veterinary Medical Association; 208 (7): 1048-1051.
  
- ❖ Krahwinkle DJ 1993  
External ear canal; In: Text book of small Animal surgery;  
WB Saunders, Philadelphia, pp1561-1567.
  
- ❖ Kowalski JJ, 1988  
*The microbial environment of the ear canal in health and disease.*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 8:743-54.
  
- ❖ Logas DB 1994  
*Diseases of the ear canal*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 24: 905-19.
  
- ❖ Loshe J, Rinder H, Gothe R, Zahler M. 2002  
*Validity of species status of the parasitic mite Otodectes cynotis.*  
Medicine Veterinary Entomology; 16:133-8.
  
- ❖ Lynette K. Cole 2004  
*Otosopic evaluation of the ear canal*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 34: 397-410.

- ❖ Lane JG 1979  
Canine aural surgery  
In Practice I; 5-11.
  
- ❖ McCarthy, Kelly 1982  
*Microbial species associated with the canine ear and their antibacterial sensitivity patterns.*  
Irish Veterinary Journal; 36: 53-56.
  
- ❖ McKeever Pj 1995  
*Canine otitis externa.*  
Current veterinary therapy XII; WB Saunders, Philadelphia, pp. 647-655.
  
- ❖ Murphy KM. 2001  
*A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media..*  
The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 16: pp.236-241.
  
- ❖ Miller, Griffin, Campbell 2013  
In: *Muller & Kirk's 2013 Small animal dermatology*  
Ed. Elsevier 7° edition cap. 19.
  
- ❖ Muse R, Griffin C, Rosenkrantz WS. 1996  
*The prevalence of otic manifestations and otitis externa in allergic dogs.*  
In Proc AAVD and ACVD, Las Vegas.
  
- ❖ Noxon J., 2009  
*Managing otitis externa: getting an earful*  
The North American Veterinary Conference; pp 304-309.
  
- ❖ Paterson S. 2002  
*A review of 200 cases of otitis externa in the dog.*  
In: Proceedings of the 18th Annual Congress of the European Society of Veterinary Dermatology-European College of Veterinary Dermatology pp 225.
  
- ❖ Pelagalli, Botte 1999.  
*Anatomia veterinaria sistematica e comparata*
  
- ❖ Powell MB, Weisbroth SH, Roth L, Wilhelmsen C. 1990  
*Reaginic hypersensitivity in Otodectes cynotis infestations of cats and mode of mite feeding.*  
American Journal Veterinary research; 6:877-81.
  
- ❖ Randall C. Thomas, 2005  
*Otitis externa: a systematic approach to diagnosis and treatment.*  
Southeast Veterinary Dermatology & Ear Clinic Mt. Pleasant, SC.
  
- ❖ Rosser EJ 2004

*Causes of otitis externa*

The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 34: pp.459-468.

❖ Rosser EJ. 1993

*Diagnosis of food allergy in dogs.*

Journal of the American Veterinary Medical Association; 203 (2):259–62.

❖ Rosychuk RA. 1994

*Management of otitis externa*

The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 24: pp.921-952.

❖ Saridomichelakis, Farmaki , Leontides, Koutinas 2007

*Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases.* Veterinary Dermatology, 18; 341-347

❖ Roth L. 1988

*Pathologic changes in otitis externa*

The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice; 18: 755–64.

❖ Spaterna A. 2008

*Dermatologia del cane, dal segno clinico alla diagnosi e terapia.*

Cap.13 - Malattie dell'orecchio esterno; pp 461- 486.

❖ Scarampella 2005

*Eziopatogenesi e approccio clinico all'otite esterna nel cane*

Studio Dermatologico Veterinario, Milano

Internet:<http://cms.evsrl.it/SocSpec/SiteTailorCommon/ShowBinary.aspx?id=3290>.

❖ Scott DW, Miller WH, Griffin 2001

*Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears.*

In: Small Animal Dermatology, 6th edn. Philadelphia, PA: WB Saunders; p. 1185–235.

❖ Scott DW, Miller WH, Griffin 2001

*External ear diseases.*

In: Small Animal Dermatology, 6th edn. Philadelphia, PA: W.B. Saunders, 1203–35.

❖ Scott DW, Miller WH, Griffin CE. 2001

*Fungal skin diseases.*

In: Small Animal Dermatology, 6th edn. Philadelphia, PA: WB Saunders; p. 336–422.

❖ Scott DW, Miller WH, Griffin CE. 2001

*Skin immune system and allergic skin disease.*

In: Small Animal Dermatology, 6th edn. Philadelphia, PA: W.B. Saunders. pp 543-666.



- ❖ Sylvestre AM 1998  
*Potencial factors affecting the outcome of dogs with a resection of the lateral wall of the vertical ear canal.*  
Canadian Veterinary Journal 39; 157-160.
  
- ❖ Spreull JSA 1964  
*Treatment of otitis media in the dog*  
Journal of Small Animal Practice; 5:107-52.
  
- ❖ Viorca Mircean, M. Mircan, Raluca Gavrea, V. Cozma 2008  
*Epidemiological aspects of otitis externa in dogs.*  
U.S.A.M.V. Cluj-Napoca.
  
- ❖ Weisbroth SH, Powell MB, Roth L, Scher S. 1974  
*Immunopathology of naturally occurring otodectic otoacariasis in the domestic cat.*  
Journal of the American Veterinary Medical Association; 165:1088-93.
  
- ❖ White PD, 1999  
*Medical management of chronic otitis in dogs.*  
Compend Contin Educ Pract Vet 21: 716-28.
  
- ❖ Zur, Lifshitz and Bdolah-Abram 2011  
*The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens.*  
Journal of Small Animal Practice; 52: 254-258.

